

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Validación del método analítico por destilación fraccionada para la cuantificación de alcohol isopropílico en soluciones con gluconato de clorhexidina. Lima – 2018

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

Bach. CANALES QUISPE, Erica

AYACUCHO – PERÚ

2018

A mis padres: Federico y Lidia por su abnegada labor, quienes me enseñaron el valor de la educación, a mis hermanos James, Alicia, Rosseyzela y a mis sobrinos Itzel y Sebastián, por su compañía en cada etapa de la vida.

AGRADECIMIENTO

Mi eterna gratitud a mi *alma mater*, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, a la Facultad de Ciencias de la Salud, en especial a la Escuela de Farmacia y Bioquímica por forjar profesionales al servicio de la Salud.

Al Laboratorio ROKER PERU S.A. cuyos profesionales y gerente permitieron el desarrollo del trabajo en sus instalaciones.

A la plana docente de la Facultad de Ciencias de la Salud, Ingeniería Química y a la escuela de Farmacia y Bioquímica por su apoyo y motivación en mi formación profesional.

A mis asesores: Mg. Q.F. Maricela López Sierralta, Q.F. Fernando Saccatoma Contreras por su tiempo compartido y por la acertada asesoría brindada en la realización del presente trabajo.

A mis amigas(os): Elizabeth Canaza Luque, Derliz Allica Puquio, Roberth, Mueras Vega, por su permanente apoyo y aquellas personas quienes de manera directa e indirecta me apoyaron en la culminación de este trabajo de investigación.

ÍNDICE

	Pág.
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	01
II MARCO TEÓRICO	03
2.1 Antecedentes	03
2.2 Calidad en la industria Farmacéutica	06
2.3 Validación de métodos analíticos	08
2.4 Entorno legal	11
2.5 Categorías de la validación	12
2.6 Parámetros de validación de métodos analítico	13
2.7 Clases de calificación	14
2.8 Destilación	15
2.9 Espectrofotometría	17
2.10 Alcohol Isopropilico	18
III. MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1 Lugar de ejecución	21
3.2 Materiales	21
3.3 Diseño metodológico	21
3.4 Diseño experimental	35
3.5 Análisis de datos	35
IV. RESULTADOS	37
V. DISCUSIÓN	49
VI CONCLUSIONES	55
VII. RECOMENDACIONES	57
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
ANEXOS	65

ÍNDICE DE TABLAS

	Pag	
Tabla 1	Parámetros de desempeños analíticos para la validación.	13
Tabla 2	Diferencia de destilación simple y destilación fraccionada.	16
Tabla 3	Clasificación de alcoholes.	20
Tabla 4	Peso específico obtenido vs concentración de alcohol isopropílico como materia prima.	22
Tabla 5	Peso específico obtenido vs % volumen de alcohol isopropílico.	25
Tabla 6	Pesos estimados de alcohol Isopropílico (potencia de alcohol isopropílico 99,6957%v/v, peso específico: 0,7861) en referencia del 100% (70 mL) para el parámetro de linealidad de sistema.	26
Tabla 7	Pesos estimados de alcohol isopropílico (potencia de alcohol isopropílico 99,6957%v/v, peso específico: 0,7861), en referencia del 100% (70 mL), concentración de gluconato de clorhexidina = 20,7 como materia prima y densidad = 1,064 para el parámetro de linealidad de método.	26
Tabla 8	Pesos estimados de alcohol isopropílico (potencia de alcohol isopropílico 99,6957%v/v, peso específico: 0,7861), en referencia del 100% (70 mL), concentración de gluconato de clorhexidina = 20,7 como materia prima y densidad = 1,064) para el parámetro de exactitud.	31
Tabla 9	Factores nominales y alternativas para la prueba de robustez según Yoden Steiner.	35
Tabla 10	Varianzas encontradas, para el alcohol isopropílico en las muestras a diferentes concentraciones en el parámetro de exactitud en el laboratorio Roker Peru S.A - Lima 2018.	41
Tabla 11	Promedios de pesos específicos y concentraciones obtenidas por cada muestra de trabajo 20°C, para precisión intermedia - Repetibilidad en el laboratorio. Roker Peru S.A – Lima.	42
Tabla 12	Promedio de los pesos específicos y concentraciones obtenidas por cada muestra valorada por los dos analistas en precisión intermedia.	43
Tabla 13	Factores Nominales, Alternativos y los resultados obtenidos para la prueba de robustez según el test de Youden y Steiner para el alcohol isopropílico en el laboratorio Roker Perú S.A -Lima 2018.	45

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pag.
Figura 1 Clases de calificación	15
Figura 2 Porcentaje de la concentración teórica de alcohol isopropílico en relación a la concentración estimada por el método de destilación fraccionada, para el parámetro de linealidad de sistema en el laboratorio Roker Perú S.A. Lima – 2018.	39
Figura 3 Porcentaje de la concentración teórica de alcohol isopropílico en relación a la concentración estimada por el método de destilación fraccionada, para el parámetro de linealidad de método en el laboratorio Roker Perú S.A.-Lima 2018.	40
Figura 4 Concentraciones encontradas en diferentes muestras para el parámetro de selectividad en el laboratorio Roker Perú S.A -Lima 2018	44
Figura 5 Determinación del alcohol isopropílico por espectrofotómetro infrarrojo en la muestra destilada en el parámetro de linealidad de sistema en el laboratorio Roker Perú S.A.-Lima 2018.	46
Figura 6 Determinación del alcohol isopropílico por espectrofotómetro infrarrojo en la muestra destilada en el parámetro de linealidad de método en el laboratorio Roker Perú S.A.-Lima 2018.	47
Figura 7 Determinación del alcohol isopropílico y otros alcoholes por espectrofotómetro Infrarrojo (IR) de la muestra destilada para el parámetro de selectividad en el laboratorio Roker Perú S.A 2018.	48

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pag
Anexo 1 Tabulación de los datos del peso de picnómetro con la muestra y pesos específicos de la destilación obtenida a diferentes concentraciones. Para el parámetro de linealidad de sistema Roker Perú S.A Lima -2018	67
Anexo 2 Tabulación de datos de concentración teórica y la concentración estimada según el método de destilación fraccionada para el alcohol isopropilico a diferentes concentraciones en el parámetro de linealidad de sistema Roker Perú S.A Lima -2018.	68
Anexo 3 Concentraciones conocidas, obtenidas según el método de destilado para el alcohol isopropilico y el factor hallado para cada intersección de la linealidad del sistema realizado en el laboratorio. Roker Perú S.A.-Lima 2018.	69
Anexo 4 Tabulación de los datos del peso de picnómetro con la muestra y pesos específicos de la destilación obtenida a diferentes concentraciones en el parámetro de linealidad de método realizado en el laboratorio Roker Perú S.A Lima - 2018.	70
Anexo 5 Tabulación de datos; concentración conocida y la concentración de respuesta según el método de destilación fraccionada para el alcohol Isopropilico a diferentes concentraciones para el parámetro de linealidad de método realizado en el laboratorio Roker Perú S.A Lima -2018.	71
Anexo 6 Concentraciones teóricas, obtenidas según el método de destilado para el alcohol Isopropilico y el factor hallado para cada intersección del parámetro de linealidad del método realizado en el laboratorio Roker Perú S.A Lima -2018.	72
Anexo 7 Concentraciones encontradas y porcentaje de recuperación para el alcohol isopropílico en las muestras enriquecidas con placebo en el parámetro de exactitud en Roker Perú S.A.-Lima 2018.	73
Anexo 8 Muestras preparadas, pesos específicos, concentraciones estimadas y el porcentaje de recuperación del analito para el parámetro de precisión intermedia - Repetibilidad en el laboratorio Roker Peru Lima - 2018.	74
Anexo 9 Muestras preparadas, analizadas por diferentes analistas y las concentraciones recuperadas de alcohol isopropilico para el parámetro de precisión intermedia en el laboratorio Roker Peru Lima - 2018.	75
Anexo 10 Resultado del parámetro de Selectividad de método. de acuerdo al estrés sometido a las muestras, en y sustancias	

	relacionadas (análito más placebo) y placebo solo en el laboratorio Roker Perú S.A Lima -2018.	76
Anexo 11	Test de Youden y Steiner para el alcohol isopropilico en concentraciones obtenidas para diferentes muestras con ciertos cambios en el proceso de análisis (factores de cambio) en el laboratorio Roker Perú S.A. Lima - 2018.	77
Anexo 12	Pesos de la muestra más el picnómetro, pesos específico - volumen encontrado y porcentaje de recuperación del alcohol isopropilico para el parámetro de robustez en el laboratorio Roker Peru S.A Lima - 2018.	78
Anexo 13	Fórmula cuali-cuantitativa del producto para cada 100 mL .	79
Anexo 14	Lista de materiales a usar en el proceso de validacion.	80
Anexo 15	Resultados de la validacion.	81
Anexo 16	Flujograma de preparación de las muestras hasta la obtención de la solución destilada.	82
Anexo 17	Recepción de la muestra después de la destilación en el laboratorio Roker Peru S.A. Lima-2018.	83
Anexo 18	Equipo de destilador fraccionado	84
Anexo 19	Certificado de calibración del picnómetro del laboratorio Roker Peru S.A.	85
Anexo 20	Certificado de calibración del termómetro liquido del laboratorio Roker Peru S.A.	86
Anexo 21	Matriz de consistencia	87

RESUMEN

La validación del método analítico es parte del sistema de control de calidad, puesto que confiere la seguridad de los resultados obtenidos en el laboratorio de análisis, es un requisito necesario por parte de las Buenas Prácticas de Manufactura, considerando las exigencias de la organización mundial de la salud (OMS) y la dirección general de medicamentos insumos y drogas (DIGEMID). Se evaluaron los parámetros estipulados en la USP e ICH como: Linealidad, precisión, exactitud, selectividad y robustez.

El estudio es tipo descriptivo, que se realizó en el departamento de control de calidad del Laboratorio Roker Peru SA, Lima durante el año 2018, aplicando el método de destilación fraccionada y espectrofotometría infrarrojo.

Los resultados obtenidos indicaron que el método era selectivo que las muestra analizadas no interfirieron con la concentración y los picos principales en la identificación del alcohol isopropílico así mismo con las comparaciones con otros tipos de alcoholes, en linealidad el coeficiente de determinación fue 0.9997, en precisión el coeficiente de variación 0,11533% y prueba de $f_{exp} (1.00) < f_{tablas} (2.272)$ no existe variabilidad significativa; en exactitud, la prueba de test de Cochran $G_{exp} (0.359) < G_{tabla} (0.879)$ que la variabilidad observada son iguales para cada concentración, para el mismo parámetro se realizó la prueba $t_{exp} (1.989) < t_{tabla} (2.306)$, no existe diferencia significativa entre la recuperación media y el 100%, para la robustez los cambios en cuanto al tipo de equipo y al tiempo de la preparación de la muestra no interfirieron en la concentración del producto finalmente para poder garantizar la pureza del alcohol isopropilico, después de la destilación se determinó por espectrofotometría de infra rojo comparando con una estándar de alcohol isopropilico.

Palabra clave: *Validación del método analítico, alcohol isopropilico y espectrofotómetro por infra rojo (IR)*

I. INTRODUCCIÓN

La industria farmacéutica es un elemento muy importante de los sistemas de salud de todo el mundo, está constituido por numerosas organizaciones públicas y privadas dedicadas al descubrimiento desarrollo, fabricación y comercialización de medicamentos para la salud. Su fundamento es la investigación y desarrollo de un medicamento para prevenir o tratar diversas enfermedades y alteraciones.

La misión de la industria farmacéutica es elaborar productos farmacéuticos, dispositivos médicos y cosméticos, acorde a las normas de calidad vigente tanto en el ámbito nacional e internacional, por ello los productos requieren métodos analíticos validados.

La validación es parte integral de las buenas prácticas de manufactura (BPM), es por ello que las entidades como la organización mundial de la salud (OMS), dirección general de medicamentos insumos y drogas (DIGEMID) y las obras oficiales como la farmacopea americana (USP) y farmacopea británica (BP), consignan la necesidad de validar los métodos analíticos.

Esta investigación será aplicada con mayor frecuencia en las industrias farmacéuticas, donde el método queda validado de acuerdo a los resultados obtenidos como: repetibilidad, precisión y exactitud de resultados de los análisis.

El presente trabajo plantea la validación del método analítico por destilación fraccionada para la cuantificación del alcohol isopropílico en soluciones con gluconato de clorhexidina por esta consideración el presente trabajo de investigación plantea los siguientes objetivos:

Objetivo General:

- Validar el método analítico por destilación fraccionada para la cuantificación del alcohol isopropílico en soluciones con gluconato de clorhexidina.

Objetivos Específico:

- Desarrollar los parámetros de validación del método analítico, cumpliendo las exigencias de la validación como: linealidad (linealidad de sistema y linealidad

de método), exactitud, precisión (precisión intermedia y repetibilidad), selectividad y robustez, con la confiabilidad y seguridad, para la cuantificación analítica del alcohol isopropílico en soluciones con gluconato de clorhexidina.

- Determinar la pureza del alcohol isopropílico después del destilado en los parámetros de linealidad de sistema, linealidad de método y selectividad.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

Hasta la actualidad ninguna obra oficial ha desarrollado un análisis para la cuantificación de alcohol isopropílico en soluciones con gluconato clorhexidina por ello el Laboratorio Roker Peru S.A ha desarrollado el método analítico utilizando esta metodología.

Contreras¹ en el año 2011, realizó un estudio titulado “Desarrollo de un proceso industrial para recuperar alcohol Isopropilico en residuo de ranitidina ”se utilizó el equipo de destilación para la obtención del alcohol, se tomaron muestras 355 mL de la mezcla de Isopropanol.- agua (70%:15%) para la obtención de alcohol isopropílico, se controlaron el tiempo de destilación y temperatura, el objetivo del estudio fue recuperar alcohol isopropílico, a partir de la mezcla preparada, como resultado se obtiene un 342 mL de alcohol isopropílico con un pH = 6.96 casi el 100% de la muestra tomada a una temperatura de 82°C concluyendo que el método aplicado cumple con las condiciones para la recuperación de Isopropanol.

Zenteno² en el 2011 realizó una investigación titulada “la validación de la metodología analítica para la determinación de etanol por cromatografía gaseosa con detector FID acoplada a Headscapce en el servicio médico legal de tenuco.” Se prepararon una serie de muestras de sangre, enriquecidas con etanol, de las cuales se obtuvieron alícuotas necesarias para sus respectivos análisis, teniendo como objetivo validar la metodología para la determinación del etanol por cromatografía gaseosa en el servicio médico legal, utilizando el método de análisis de los parámetros de validación según USP 35. Los resultados que se obtuvieron fueron satisfactorios dentro de las especificaciones establecidas, para cada análisis, se concluye que la metodología es validada ya que cumple las exigencias establecidas.

Moreno³ y sus colaboradores, en el año 2010 realizaron una investigación titulada. “Determinación de alcoholes superiores por cromatografía gaseosa y validación preliminar del método”. Tomaron 14 muestras de rones para sus respectivos análisis,

el instrumento de medición que se utilizó fue cromatografía gaseosa, este estudio se realizó con el objetivo de realizar la validación preliminar para la determinación de acetato de etilo, metanol, n-propanol, isobutanol e isopropílico. Cumpliendo los parámetros de validación según ICH como: El Límite de detección, exactitud, veracidad y sensibilidad. Que se obtuvieron resultados confiables para cada análisis realizada, la sensibilidad del método fue determinado a través de la pendiente de la curva patrón para cada componente, siendo del metanol $m = 6.61$ como la más baja y para el Isopropanol $m = 11.21$ lo que representan valores buenos de sensibilidad, se concluyó que método quedó validado que cumplió las exigencias de la validación. Challco⁴ en año 2017 realizó una investigación titulada “Efectividad del Alcohol Isopropílico, Hipoclorito de Sodio, Ácido Peracético y Clorhexidina en la desinfección de conos de gutapercha expuestos a *Enterococcus faecalis*” Se utilizaron 144 conos de gutapercha, el microorganismo utilizado fue el *Enterococcus faecalis*, los compuestos químicos fueron el alcohol isopropílico 70°, Hipoclorito de Sodio 5%, Ácido Peracético 1% y clorhexidina 2%. El periodo de inmersión para cada compuesto químico fue de 15 segundos, 30 segundos, 1 minuto y 5 minutos. Los conos de gutapercha fueron contaminados con *Enterococcus faecalis* y luego inmersos en cada compuesto químico. Después, cada cono fue puesto dentro de un tubo estéril que contenía caldo Brain Heart la Infusión e incubado a 37°C por 48 horas. Posteriormente, se evaluó la viabilidad bacteriana del *Enterococcus faecalis*, los resultados fueron: El Ácido Peracético 1% y la clorhexidina 2% mostraron los mejores valores de eficacia antibacteriana a lo largo de todos los tiempos de exposición. Por el contrario, el Hipoclorito de Sodio 5% lo presentó comenzando el minuto, mientras que el Alcohol Isopropílico 70° recién a los 5 minutos de exposición reveló una actividad antibacteriana, conclusiones: El Ácido Peracético 1% y la clorhexidina 2% fueron los más efectivos a lo largo de los diferentes tiempos de exposición en la desinfección de conos de gutapercha, dado que disminuyeron la viabilidad del *Enterococcus faecalis* en un 90% aproximadamente.

Robles⁵ y sus colaboradores en el 2013 realizaron una investigación sobre “validación del método de limpieza y sanitización para recintos de producción de radiofármacos” como perteneato de sodio tc 99m y EDTMP-Sm153 donde se utilizaron dos soluciones desinfectantes alcohol isopropílico 70% y peróxido de hidrogeno 3% utilizaron las máquinas de fabricación de cada radiofármacos el objetivo de la investigación es garantizar la actividad microbiología de estos desinfectantes, que tomaron muestras después de los lavados de cada máquina de fabricación, se

realizaron cultivos microbiológicos. Se concluye que el método de limpieza y sanitización es efectivo para la reducción o eliminación de la contaminación microbiana, el proceso está validado.

Loaiza⁶ y su colaborador en el año 2011 realizaron una investigación titulada “evaluación del método analítico colorimétrico del dosaje etílico frente al método de cromatografía de gases: estudio en bebedores sociales y diabéticos abstemios de la ciudad del cusco, determinación de interferentes: especial interés en acetona e Isopropanol” Para el caso de bebedores sociales se tomaron 45 sujetos de estudio que fueron seleccionados mediante los criterios de inclusión y exclusión, se utilizó como instrumento de recolección de datos una ficha de evaluación. Para determinar la concentración de alcohol en sangre por ambos métodos, al comparar los resultados obtenidos por el método analítico colorimétrico de dosaje etílico frente al método analítico de cromatografía de gases para el caso de 11 diabéticos abstemios, se determinó que los niveles de acetona y metano! presentes en la sangre de sujetos diabéticos abstemios interfieren en el método analítico colorimétrico del dosaje etílico. No se evidencio presencia de isopropanol las muestras de sangre de sujetos diabéticos abstemios por el método de cromatografía de gases. Concluyendo que el método analítico colorimétrico utilizado para la cuantificación de etanol en sangre en la ciudad del Cusco, es lineal, preciso y exacto ~en el rango del 50 al 150% de las concentraciones de trabajo, cumpliendo con los~ límites de aceptación establecidos para estos parámetros.

Howard⁷ y sus colaboradores en el año 2014 realizaron un estudio titulado “Ensayo clínico aleatorio auto controlado de gluconato de clorhexidina al 0.05% con alcohol isopropílico 70% enfrentando con gluconato de clorhexidina 4%, utilizando el equipo de luminometro (determinación de carga de ATP, valores aceptable después de una limpieza < 500 ATR), antes de iniciarse con los ensayos de lavado de manos se hizo una previa evaluación de la carga microbiana que se encuentra en las manos de los médicos, resultados de lectura del luminometro antes del lavado 8000, 5000, 2300,1800, para continuar se realizaron la práctica de lavado de manos como lavado clínico y lavado convencional con los productos mencionados, después de cada lavado se volvió a tomar las muestras para un nuevo análisis los resultados fueron con solución de gluconato de clorhexidina fue 900, 1200, 750, 800, 700 y con gluconato /alcohol isopropilico fueron 300, 250, 170, 100, 210 que los resultados fueron eficaces con gluconato /alcohol isopropilico que la carga microbiana disminuye

Saccatoma⁸ en el 2013 realizó estudio de “validación de técnica analítica del alcohol etílico y gluconato de clorhexidina en productos farmacéuticos por destilación y por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC)” para la obtención del alcohol se utilizó el equipo de destilador simple, se prepararon muestras a diferentes concentraciones de acuerdo a los requisitos de los parámetros de validación, el objetivo del estudio fue validar la técnica analítica para la cuantificación de alcohol etílico por destilación y gluconato de clorhexidina por HPLC. utilizando el método de análisis de los parámetros de validación según USP 36. Los resultados que se obtuvieron fueron satisfactorios dentro de las especificaciones establecidas, para cada análisis, se concluye que el método es validado ya que cumple las exigencias establecidas.

Martínez⁹ y sus colaboradores en el año 2011 realizaron un estudio titulado “obtención de alcoholes superiores a partir de fusel mediante destilación fraccionada” utilizaron el instrumento de destilación fraccionada, para la obtención de los alcoholes superiores, tomando como muestra fusel crudo y fusel deshidratado con cloruro de sodio, el objetivo del siguiente estudio fue determinar la etapa de destilación para la obtención de los alcoholes a diferentes escalas de temperatura los resultados que se obtuvieron fueron la mayor cantidad de obtención de alcoholes con el fusel crudo a diferencia del fusel hidratado, llegaron a una conclusión que en la muestra de fusel crudo hay una obtención de alcoholes en mayor cantidad.

Así mismo cabe señalar que la validación es un tema que surge en el informe 32 de la (OMS, 1996) y regulado por la DIGEMID 1996 que hasta la actualidad sigue vigente, donde se modificó algunos capítulos en el 2016.¹⁰

A partir de la fecha la validación es considerada como piedra angular de las buenas prácticas de manufactura y tema recurrente en las auditorías para la certificación¹⁰

2.2 Calidad en la Industria Farmacéutica¹¹

2.2.1 Calidad¹¹

Es la totalidad de los rasgos y características de un producto, proceso y servicio que inciden en su capacidad de satisfacer las necesidades de los clientes. Sistemas de métodos de producción que económicamente genera bienes o servicios de calidad acorde con los requisitos de los consumidores.

2.2.2 Administración de la Calidad en la Industria Farmacéutica¹²

En la industria farmacéutica en general, la administración de la calidad está ligada a la ejecución de las políticas de la empresa, los elementos básicos de la calidad son los siguientes:

- a) Sistema de Calidad compromete la estructura de la organización, procedimiento, instructivos, descripción de un proceso.
- b) Aseguramiento de la calidad, involucra las medidas que se adoptan para asegurar que el producto cumple con determinadas condiciones

2.2.3 Garantía de la Calidad¹³

El propósito principal del laboratorio es la producción de resultados analíticos de alta calidad, mediante la medición precisa, confiable y adecuada para el producto

Es el conjunto de actividades que busca asegurar la calidad del producto farmacéutico, dispositivo médico y producto cosmético. Por lo tanto, la garantía es parte de las Buenas Prácticas de Manufactura y otros conceptos de alineamiento, desarrollo y diseño de producto.¹³

El concepto de garantía de calidad abarca todos los aspectos que influyen individualmente y colectivamente en la calidad del producto y es responsabilidad del fabricante de productos farmacéuticos, asegurar que sean apropiados para el uso previsto, que reúnan los requisitos necesarios para autorizar su comercialización y calidad.¹³

2.2.4 Gestión de la calidad¹⁴

Es un sistema de medios para generar económicamente productos y servicios que satisfagan los requisitos del cliente. La implementación de este sistema necesita de la cooperación de todo el personal de la organización, desde el nivel gerencial hasta el operativo e involucrando a todas las áreas.

Los 14 puntos de Deming

- 1.- Crear constancia con el propósito para la mejora de productos y servicios.
- 2.- Adoptar una nueva filosofía.
- 3.- Dejar de confiar en la inspección masiva.
- 4.- Poner fin a la práctica de conceder negocios con base en el precio únicamente.
- 5.- Mejorar constantemente y por siempre el sistema de producción y servicios.
- 6.- Instituir la capacitación.
- 7.- Instituir el liderazgo.
- 8.- Eliminar el temor.
- 9.- Derribar las barreras que hay entre las áreas.
- 10.- Eliminar las exhortaciones y las metas de producción para la fuerza laboral.
- 11.- Eliminar las cuotas numéricas.
- 12.- Remover las barreras que impiden el orgullo por un trabajo bien hecho.
- 13.- Instituir un programa vigoroso de educación y capacitación.

14.- Tomar medidas para llevar a cabo la transformación.

2.2.5 Buenas Prácticas de Manufactura (BPM)

Buenas Prácticas de Manufactura es el conjunto de normas mínimas establecidas hacia el laboratorio fabricante, para la ejecución de los procedimientos analíticos destinados a garantizar la calidad de productos manufacturados, conforme al requerimiento del registro sanitario, BPM tienen el objetivo principal disminuir los riesgos inherentes a toda la producción farmacéutica que no pueden prevenirse completamente mediante el control definitivo, tales riesgos son: La contaminación cruzada y la confusión¹⁰

2.2.6. Buenas Prácticas de Laboratorio¹⁰.

En la industria farmacéutica los principios de BPL están referidos al cumplimiento de las BPM en los puntos de control calidad. Son conjunto de normas y procedimientos de operaciones, como requerimiento mínimo para promover la calidad e integridad de un producto.

Las BPL pretenden promocionar la calidad validez de los datos de análisis y áreas de trabajo bajo normas de BPL son:

- Organización del personal
- Instalaciones
- Estándares de referencia
- Aparatos, reactivos y materiales
- Documentación
- Inspecciones
- Verificaciones de los resultados

2.2.7 Control de calidad.

Control de calidad es parte de la BPM, esto implica las siguientes condiciones: especificaciones, muestreos, ensayos, análisis, así como la organización de procedimientos y documentación en la liberación del producto. Control de calidad no se limita a las operaciones de laboratorio, por lo contrario, está involucrado en todas las decisiones de la calidad de acuerdo al producto.¹³

Su misión es establecer especificaciones para las operaciones concretas de control, en el caso de especificaciones farmacéuticas estarán basadas en la documentación del registro permanente actualizada de cada una de ellas, en las farmacopeas que sean de aplicación y en los demás requisitos marcados por la ley¹³

2.3 VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS.

Es la evidencia documentada de todo procedimiento analítico que conlleva a un

a un alto grado de seguridad y debe ser analizada utilizando métodos y equipos que hayan sido verificados, de tal manera que asegure que son adecuados las especificaciones según su propósito establecido¹⁵

El laboratorio fabricante debe validar:

- Métodos no farmacopéicas o propias.
- Métodos propios desarrollados internamente.
- Ampliaciones o modificaciones de métodos farmacopéicas.
- Si se realiza algún cambio del método no estandarizado ya validado, se debe documentar toda influencia de cambio y realizar una nueva validación.

a). Importancia de la validación

- Demostrar que el método analítico sea adecuado a los análisis en las condiciones descritas por un protocolo, porque la validación es pieza clave para permitir la obtención de pruebas a nivel de documentación.¹⁶
- Se trabaja con técnicas analíticas que brinden seguridad y confianza en los resultados, lo cual minimiza el número de repeticiones, fallos y errores.¹⁶
- Trabajar con técnicas analíticas validadas que permite cumplir con las exigencias de la BPM, con la finalidad de asegurar la eficacia y calidad del producto.^{17,18}

La validación es la base para establecer la calidad de todo producto evaluando las características de desempeño del método a resultados previstos en todo procedimiento, proceso es asegurar la obtención de resultados deseados. Se debe validar procedimientos, procesos de fabricación, limpieza, sanitización de áreas, equipos y métodos analíticos^{16,17}

Puede ser indicado de diferente manera, pero el significado es siempre lo mismo:

- Especificar e implementar.
- Aprobar.
- Documentar.

Los estudios de validación están constituidos por parte de la BPM debe ser conforme a protocolos definidos¹⁷

Es el proceso que establece el estudio del laboratorio, de las características de desempeño del procedimiento cumple con los requisitos para la aplicación analítica prevista.¹⁷.

Validar un método básicamente es definir el requisito analítico del proceso para la confirmación que cuente con capacidades consistentes en las aplicaciones requeridas.¹⁸

b). Objetivo de la validación

El método o técnica analítica bajo el criterio de validación es dejar evidencia documentaria y demostración de la validez del método teniendo perfectamente caracterizado el análisis, con la finalidad de asegurar la calidad y eficacia de este modo, se demuestra la confianza y seguridad del método para producir un resultado previsto dentro del criterio de aceptación definido.¹⁸

c). ¿Por qué validar?^{19,20}

Porque mantiene el método o técnica estable, robusto y capaz. al validar nos brinda la seguridad en las características específicas para mantener la calidad.

Entonces, ¿Por qué validar?:

- Validando se garantiza el cumplimiento de los requerimientos pre-establecidos, se confirma la exactitud y precisión.
- Validando se garantiza las modificaciones realizadas bajo condiciones normales del ensayo de este modo el medio de trabajo no afecte negativamente en el resultado previsto.
- Porque validando garantizamos el control de los puntos críticos y evitamos el resultado erróneo de calidad en el análisis.²⁰

d) ¿Qué validar?²⁰

El análisis de un método o técnica analítica realizada internamente por el laboratorio fabricante, debe realizar la validación de todo equipo, material, especificación o procedimiento que influya en la calidad final del producto:

- Los equipos.
- Las técnicas de análisis del producto terminado (no se encuentran en ninguna farmacopea de referencia: OMS, USP, BP, etc.).
- El sistema analítico global.
- Toda modificación o cambio que afecte al método o técnica y equipo utilizado en el análisis del producto.¹⁹

e) Inicio de una validación²¹

La validación se inicia con una adecuada planificación, realizada por profesionales capacitados y formalizada a través de un plan maestro.

- La planificación incluye la revisión de todos los aspectos, como la calibración de equipos, mantenimiento de máquinas, capacitación del personal a cargo y la documentación.¹⁷

f) Documentos de la validación^{20,22}

Fundamental de la documentación aplicada en la validación interviene los procesos

Como:

- Protocolo de la validación.
- Realización de la validación.
- Evaluación de los resultados analíticos obtenidos.
- Informe de validación.
- Certificado de validación.

g) Protocolo de validación

Se trata del documento que se revisa y autoriza antes de ser ejecutado, se plantea el objetivo del sistema a validar, la identificación de los parámetros a utilizar, el diseño experimental y los criterios de aceptación deben ser específicos para cada producto. Además, debe estar firmado por las personas responsables de la validación y su aprobación.²¹

El protocolo detalla el estudio integral planificado de la investigación del funcionamiento del sistema y equipo, está fundamentado de manera lógica y describe de forma completa el procedimiento, con la finalidad de demostrar documentación y asegurar la validación.²²

h) Certificado de validación

El certificado de validación es un documento formal de aprobación, que emite el laboratorio fabricante con los resultados obtenidos para cada parámetro analizado, debe contar con las firmas de las personas responsables.²¹

2.4 ENTORNO LEGAL

Normas nacionales.

- Ley N.º 29459 - Ley de los Productos Farmacéuticos, Dispositivos Médicos y Productos Sanitarios. Validación de métodos analíticos.¹³
- Decreto Supremo N.º 016-2011/SA se aprobó el reglamento para registro, control y vigilancia sanitaria de productos farmacéuticos, dispositivos médicos y productos sanitarios, el cual dispone respectivamente en sus artículos sobre validación se encuentran el N° 40, 53, 62, 70, 81, 93, y 104²⁶
- Manual de Buenas Prácticas de Manufactura de Productos Farmacéuticos: R.M. N° 055-99-SA/DM del 08 de febrero de 1999.¹⁰

Normas internacionales.

- La FDA (Food and Drug Administration) requiere la validación y documentación del método analítico para el registro de nuevos productos.¹⁵
- Good Manufacturing Practice (GMP) - Buenas prácticas de manufactura de EE. UU. indica el cumplimiento de los parámetros de validación indicado en

farmacopeas como la exactitud, linealidad, especificidad o selectividad y reproducibilidad de los métodos analíticos utilizados y documentados²².

- Compendios oficiales y/o farmacopeas empleadas como punto de partida para el desarrollo de validación, existen varias farmacopeas de reconocido prestigio: como la Farmacopea Americana (USP), Farmacopea internacional (OMS) o Farmacopea Británica (BP).¹⁹
- ISO 17025 (Guía Organización Internacional de Normalización 17025):²⁵
- Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (A.E.F.I.)²⁰
- ICH (Conferencia Internacional de Armonización)²⁷.

ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL DE NORMALIZACIÓN (ISO)

En actualidad a nivel mundial las normas ISO 9000 y ISO 14000 son requeridas, debido a que garantizan la calidad de un producto mediante la implementación de controles exhaustivos, asegurándose de que todos los procesos que han intervenido en su fabricación operan dentro de las características previstas. La normalización es el punto de partida en la estrategia de la calidad, así como para la posterior certificación de la empresa.²⁶

Estas normas fueron escritas con el espíritu de que la calidad de un producto no nace de controles eficientes, sino de un proceso productivo y de soportes que operan adecuadamente. De esta forma es una norma que se aplica a la empresa y no a los productos de esta. Su implementación asegura al cliente que la calidad del producto que él está comprando se mantendrá en el tiempo. En la medida que existan empresas que no hayan sido certificadas constituye en la norma una diferenciación en el mercado. Esto ocurre hoy en países desarrollados en donde los departamentos de abastecimiento de grandes corporaciones exigen la norma a todos sus proveedores²⁶

2.5 CATEGORIAS DE LA VALIDACIÓN

Categoría I: Procedimiento analítico para la cuantificación de actividad biológica o potencia de las materias primas de productos biológicos y productos farmacéuticos (fármacos a granel o ingrediente activos incluyendo conservantes), que mide al analito presente en una muestra determinada.^{28,29}

Categoría II: Procedimiento analítico en la determinación de impurezas presentes en fármacos a granel o fármacos de degradación en productos farmacéuticos terminados por encima por debajo de un valor límite especificado^{28,29}

Categoría III: Procedimiento analítico que determina las características de desempeño de un producto farmacéutico, como disolución y liberación de fármaco

entre otros.^{28,29}

Categoría IV: Procedimiento analítico en la identidad del analito en una muestra²⁹.

Tabla 1: Parámetros de Desempeños Analíticos requeridos para la Validación²⁸.

Características de desempeño analítico	CATEG I	CATEGORIA II		CATEG III	CATEG. IV
		Prueba de límite cuantitativo	Prueba de límite cualitativo		
Exactitud	SI	SI	*	*	NO
Precisión	SI	SI	NO	SI	NO
Especificidad	SI	SI	SI	*	SI
Límite de detección	NO	NO	SI	*	NO
Límite de cuantificación	NO	SI	NO	*	NO
Linealidad	SI	SI	NO	*	NO
Intervalo	SI	SI	*	*	NO

Fases de una validación: La secuencia de actividades relacionadas con la validación se desarrollará de acuerdo al siguiente esquema de trabajo: Sin embargo, la secuencia puede verse alterada por motivos de adecuación al programa de producción, previo análisis del impacto en la calidad de la entidad a evaluar.^{20,21}

Fase 1: se constituye desde la calificación de equipos y áreas.

Fase 2: constituye validación de sistemas de apoyos críticos (agua y aire).

Fase 3: Constituye la validación de métodos analíticos.

Fase 4: Constituye validación de procesos en escala industrial.

2.6 PARÁMETROS DE VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

Las características de desempeño analítico se expresan en función de los parámetros analíticos estos parámetros analíticos son considerados en la validación como:

2.6.1 Linealidad: Es la capacidad del método analítico de obtener resultados satisfactorios linealmente proporcionales a la concentración de analito en la muestra de un intervalo determinado, de esta manera se halla el intervalo o el rango de trabajo.^{27,28}

- Linealidad del método: Es el placebo más el principio activo que se preparan Igual 5 concentraciones conocidas.²⁷
- Linealidad de sistema: Es el principio activo más su diluyente que se preparan 5 concentraciones conocidas.²⁷

2.6.2 Exactitud. La exactitud del procedimiento analítico expresa la proximidad de los resultados obtenidos a través del criterio de análisis, y aceptados convencionalmente mediante un procedimiento y el valor verdadero.^{27,28}

2.6.3. Precisión. La precisión expresa el grado de concordancia (grado de dispersión) entre una serie de medidas de tomas múltiples, a partir de una misma muestra homogénea en las condiciones prescritas. El método proporciona resultados próximos entre sí.^{27,28}

Estudia dos niveles:

- Repetibilidad: Evalúa el método (precisión intra-ensayo).
- Precisión intermedia: Evalúa la variación de analistas, equipo y día (precisión Intra-laboratorio).

2.6.4 Selectividad/especificidad: Es la capacidad de evaluar la medición y/o identificación de manera inequívoca del analíto en presencia de componentes presentes, tales como impurezas, productos de degradación y componentes de la matriz.^{27,28} El producto terminado o placebo con ingrediente farmacéutico activo, muestra tal cual es sometido a degradación como: termólisis, hidrólisis acida, hidrolisis alcalina, oxidación se realiza con peróxido de hidrogeno.^{20,21}

Alguna autoridad reguladora hace la diferenciación entre especificidad y selectividad. La distinción refiere a la selectividad en proveer exactitud de los resultados para todos los analíto de interés, mientras la especificidad está referida a la exactitud en resultados para un analíto y otros de interés pueden interferir uno con otros.^{28,29}

2.6.5 Robustez: Medida de la capacidad del método para permanecer inalterado entre pequeñas pero deliberadas variaciones en ciertos parámetros, proporcionando ideas de su fiabilidad o estabilidad durante su empleo en rutina. Es por lo tanto la capacidad de demostrar que el procedimiento de análisis proporciona resultados válidos durante su utilización.^{27,28}

2.7 CLASES DE CALIFICACIÓN

2.7.1 Calificación de Instrumentos Analíticos

En la industria farmacéutica se usan una gran variabilidad de equipos e instrumentos de laboratorio y sistemas analíticos computarizados; para adquirir datos que ayuden a garantizar que los productos son aptos para uso previsto. El objetivo de un analista es obtener en forma constante datos confiables y validos que sean adecuados para el fin previsto^{30,31,32}

Calificación de diseño (DQ): Es la colección documentada de actividades que definen las especificaciones funcionales y operativas del instrumento y los criterios para la selección del proveedor, basándose en el uso previsto del instrumento. La calificación del diseño puede realizarse no solo en el que desarrolla o fabrica el instrumento, sino también por el usuario^{30,31,32}

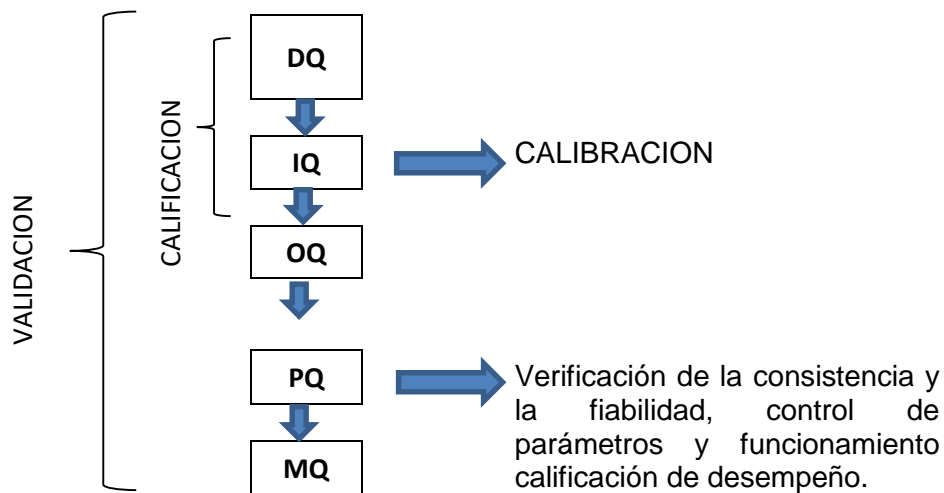
Calificación de instalaciones (IQ): Es la colección documentada de actividades necesarias para establecer que un instrumento se entrega como diseñado y especificado que está debidamente instalado en el entorno seleccionado y que este entorno es adecuado para el instrumento. La IQ se aplica a instrumento nuevo o de segunda mano.^{30,31,32}

Calificación de operación (OQ): Después de una IQ exitosa, el instrumento está listo para las pruebas OQ. La calificación operativa es la colección documentada de las actividades necesarias para demostrar que un instrumento funcionara de acuerdo con su especificación operativa en el entorno seleccionado.^{30,31,32}

Calificación de desempeño (PQ): Es la colección documentada de las actividades necesarias para demostrar que un instrumento se desempeña uniformemente de acuerdo con las especificaciones definidas por el usuario y es apropiado para el uso previsto. Después de las pruebas de IQ y OQ, la calificación de desempeño demuestra la continua aptitud del instrumento para su uso previsto.^{30,31,32}

Calibración: Conjunto de operaciones que determina bajo condiciones previamente definidas, la relación entre los valores indicados por el sistema de medición y los valores indicados por el sistema de medición y los valores correspondientes a un patrón de referencia³⁰

Figura 1. Clases de calificación



2.8 Destilación: La destilación es una operación básica que se emplea para separar dos o más líquidos miscibles de una mezcla, o para separar el disolvente de los solutos no volátiles. Se aplica, por tanto, para separar y purificar sustancias. La destilación consiste fundamentalmente en calentar la mezcla hasta su ebullición; los vapores, refrigerados y condensados, se recogen en forma líquida^{33,34}

2.8.1 Tipos de destilación

a. Destilación simple: Es un proceso meramente físico en el que los distintos componentes de una mezcla o disolución líquida se separan de este. Para ello se utiliza el punto de fusión del líquido o de los distintos líquidos del sistema. Sin embargo, existen una serie de detalles que pueden impedir que se utilice una destilación simple y que tenga que recurrir a métodos de separación mucho más sofisticados.³⁴

b. Destilación fraccionada: La destilación fraccionada es un proceso físico utilizado en química para separar mezclas generalmente homogéneas de líquidos mediante la aplicación del calor, con un amplio intercambio calórico y másico entre vapores y líquidos. Se emplea cuando es necesario separar compuestos de sustancias con puntos de ebullición distintos pero cercanos. Algunos de los ejemplos más comunes son el petróleo y la producción de etanol.³⁵

La principal diferencia que tienen con las simples es el uso de una columna de fraccionamiento; donde esta permite un mayor contacto entre los vapores que ascienden con el líquido condensado que desciende, por la utilización de diferentes "platos" (placas). Esto facilita el intercambio de calor entre los vapores (que ceden) y los líquidos (que reciben).³⁵ Ese intercambio produce un intercambio de masa, donde los líquidos con menor punto de ebullición se convierten en vapor y los vapores de sustancias con mayor punto de ebullición pasan al estado líquido.^{33,34}

Tabla 2. Diferencia de destilación simple y destilación fraccionada^{33,34}

Nº	Destilación simple	Destilación fraccionada
1	El líquido se destila desde el matraz de destilación ocurriendo primeramente la vaporización estableciendo el equilibrio líquido de vapor	Se utiliza cuando los dos componentes de la disolución son volátiles y la diferencia entre los puntos de ebullición de ambos es menor de 70°C.
2	Parte del vapor se condensa en las paredes del matraz, pero la gran parte pasa por la salida lateral condensados por el tubo refrigerante.	Se utiliza una columna de destilación fraccionada que proporciona una gran superficie para el intercambio de calor que se establece entre el vapor que asciende y el líquido que desciende
3	Se usa para separar líquidos con puntos de ebullición inferiores a 150°C o para separar mezclas de dos componentes que hiervan con una diferencia de puntos de ebullición de al menos 60 -80°C	Esto tiene como consecuencia una serie completa de evaporaciones y condensaciones parciales en toda la longitud de la columna.

2.9 ESPECTROFOTOMETRÍA³⁶

La espectroscopia en el infrarrojo medio es un método instrumental que se usa para medir la absorción de la radiación electromagnética sobre el intervalo de número de onda entre 4000 y 400 cm^{-1} (correspondiente a longitudes de onda entre 2,5 y 25 μm). A menos que se especifique algo diferente en una monografía u otro procedimiento validado, se debe usar la región de 3800 a 650 cm^{-1} (correspondiente a longitudes de onda de 2,6 a 15 μm) para asegurar el cumplimiento con la específica. La absorción de fotones ocasiona la promoción de moléculas de un estado fundamental de su modo vibratorio a un estado vibratorio excitado. La espectrometría infrarroja se basa en el hecho de que los enlaces químicos de las sustancias tienen frecuencias de vibración específicas, que corresponden a los niveles de energía de la molécula. Estas frecuencias dependen de la forma de la superficie de energía potencial de la molécula, la geometría molecular, las masas atómicas y posiblemente el acoplamiento vibracional.³⁴

2.9.1 ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN DE INFRARROJO

Cuando la radiación infrarroja incide sobre una muestra, es capaz de provocar cambios en los estados vibraciones de las moléculas constituyentes de la misma. La absorción de radiación por parte de una muestra es indicativa del tipo de enlaces y grupos funcionales presentes³⁵

Tanto desde el punto de vista instrumental como de sus aplicaciones es conveniente dividir la región infrarroja en tres regiones denominadas infrarrojo cercano (NIR), infrarrojo medio (MIR) e infrarrojo lejano (FIR). La gran mayoría de las aplicaciones analíticas clásicas de la espectroscopia infrarroja se basan en el empleo del infrarrojo medio (4000-600 cm^{-1}) y el infrarrojo cercano, que proporciona la posibilidad de convertir esta técnica en una técnica cuantitativa. La técnica de transformada de Fourier, que permite mediante una operación matemática, convertir un espectro en dominio del tiempo a un espectro en dominio de frecuencia, permite la obtención de espectros de forma rápida, precisa y con relaciones Señal/Ruido (S/N) elevadas.³⁵

Infrarrojo cercano (NIR)	780 nm - 2500 nm (12800 cm^{-1} - 4000 cm^{-1})
Infrarrojo medio (MIR)	2,5 μm - 25 μm (4000 cm^{-1} - 400 cm^{-1})
Infrarrojo lejano	25 μm - 400 μm (400 cm^{-1} - 20 cm^{-1})

- **Transmisión:** En este método de medida la radiación IR atraviesa la muestra registrándose la cantidad de energía absorbida por la muestra. A partir de la comparación de la radiación registrada tras atravesar la muestra, con un experimento de referencia se obtiene el espectro IR. Esta técnica permite analizar

con los accesorios adecuados, muestras gaseosas, líquidas y sólidas. En caso de muestras sólidas, éstas se muelen junto con KBr en polvo (ópticamente transparente) y se prensa para obtener una pastilla delgada que se expone a la radiación infrarroja.^{36,37}

- **Reflexión:** La radiación infrarroja es reflejada sobre la muestra. Analizando la radiación reflejada y comparándola con la radiación incidente se obtiene información molecular de la muestra. Para utilizar esta técnica de medida la muestra debe ser reflectante o estar colocada sobre una superficie reflectante.^{36,37}
- **Modo ATR :** Es un modo de muestreo en el que el haz IR se proyecta en un cristal de alto índice de refracción. El haz se refleja en la cara interna del cristal y crea una onda evanescente que penetra en la muestra. Ésta debe estar en íntimo contacto con el cristal. Parte de la energía de la onda evanescente es absorbida y la radiación reflejada (con la información química de la muestra) es conducida al detector. Se trata de un método muy versátil que permite la medida de muestras líquidas y sólidas sin prácticamente preparación de las mismas.^{36,37}

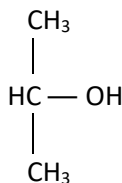
2.10 ALCOHOL ISOPROPÍLICO

Los alcoholes (etanol o alcohol etílico, alcohol isopropílico son compuestos orgánicos del agua, conocidos desde la antigüedad y usados en medicina como antisépticos de limpieza y desinfección de heridas además de la actividad antimicrobiana, son un buen solvente de otros productos, entre ellos muchos antisépticos y desinfectantes, potenciando su actividad de alcoholes.^{41,42}

2.10.1 ACCIÓN FARMACOLÓGÍA: El mecanismo de acción de los alcoholes es la desnaturalización de las proteínas de los microorganismos. La desnaturalización proteica sólo es posible en presencia de agua; por este motivo el alcohol absoluto presenta un poder bactericida mucho menor que las mezclas de alcoholes con agua.^{41,43}

Los alcoholes poseen una rápida acción y amplio espectro de actividad, actuando sobre bacterias gramnegativas y Gram positivas, incluyendo mico bacterias, hongos y virus (hepatitis B y VIH), pero no son esporicidas. Este efecto es reversible.⁴¹ Debido a la falta de actividad esporicida, los alcoholes no son recomendados para esterilización, pero son ampliamente usados para desinfección de superficies o antisepsias de la piel. bajas concentraciones pueden ser usadas como preservantes y para potenciar la actividad de otros biocidas.⁴³

2.10.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS El Isopropanol se vuelve cada vez más viscoso con la disminución de temperatura. A temperaturas inferiores a - 70°C el Isopropanol se asemeja a jarabe de arce en la viscosidad.^{41,45}



Fórmula	: C ₃ H ₈ O
Densidad	: 786 g/m ³
Apariencia	: Líquido incoloro y transparente.
Olor	: Alcohol casero.
Solubilidad	: Miscible en agua.
pH	: No hay información disponible.
Punto de ebullición	: 82° C
Punto de fusión	: -89° C
Apariencia	: Incoloro
Punto_de_inflamabilidad	: 285 K (12 °C)

Punto de Ebullición.⁴⁵ Los puntos de ebullición de los alcoholes también son influenciados por la polaridad del compuesto y la cantidad de puentes de hidrogeno los grupos OH presentes en un alcohol hacen que su punto de ebullición sea más alto que el de los hidrocarburos de su mismo peso molecular. En los alcoholes el punto de ebullición aumenta con la cantidad de átomos de carbono y disminuye con el aumento de las ramificaciones.

Solubilidad: Puentes de hidrógeno, la formación de puentes de hidrogeno permite la asociación entre las moléculas de alcohol, los puentes de hidrogeno se forman cuando el oxígeno unido al hidrogeno en los alcoholes forman uniones entre sus moléculas y las del agua. Esto explica la solubilidad del metanol, etanol, 1-propanol, 2-propanol y 2- metil-2- metil propano.⁴⁵

Propiedades químicas: Los alcoholes pueden comportarse como ácidos o bases, esto gracias al efecto inductivo que no es más que el efecto que ejerce en la molécula de OH como constituye sobre los carbonos adyacentes gracias a su efecto se establece un dipolo.⁴⁵

Deshidratación: La deshidratación de los alcoholes se considera una reacción de eliminación donde el alcohol pierde su grupo OH para dar origen a un alquenos. Aquí

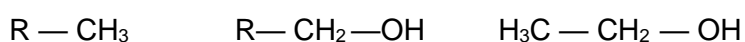
se pone en manifiesto el carácter básico de los alcoholes la reacción surge con la presencia de ácido sulfúrico (H₂SO₄) en presencia de calor.⁴⁵

Tabla 3. Clasificación de alcoholes.⁴⁵

Nombre	Punto de fusión °C	Punto de Ebullición °C	Densidad
Metanol	-97.5	64.5	0.793
1-propanol	-126	97.8	0.804
2-propanol	-86	82.3	0.789
1-butanol	-90	117	0.81
2-butanol	-114	99.5	0.806
2-metil-1-propanol	-108	107.3	0.802
2-metil-2-propanol	25.5	82.8	0.789
1-pentanol	-78.5	138	0.817
Ciclo hexano	24	161.5	0.962

2.10.4 CLASIFICACIÓN DE ALCOHOLES ⁴⁵

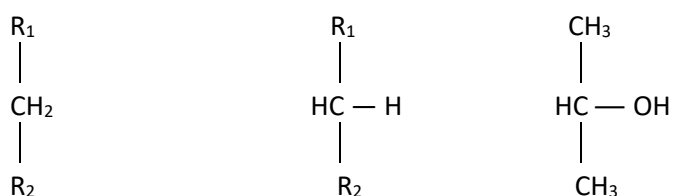
un alcohol primario: es si el átomo de hidrogeno(H) sustituido por el grupo oxidrilo (-OH) pertenece a un carbón (C) primario



Etanol

Alcohol etílico

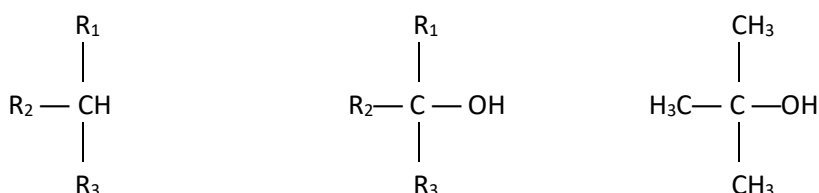
Alcohol secundario: si el átomo de hidrogeno (H) sustituido por el grupo oxidrilo (-OH) pertenece a un carbón (C) secundario.



2- propanol

alcohol isopropilico

Alcoholes terciarios: si el átomo de hidrogeno (H) sustituido por el grupo de oxidrilo (-OH) pertenece a un carbón (C) terciario.



2-Metil 2 propanol
(alcohol terbutilico)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de ejecución

El presente trabajo se realizó en el laboratorio Roker Peru S.A en el departamento de control de calidad –área de instrumentación fisicoquímica entre los meses de febrero a julio del 2018, en el distrito de San Martín de Porres - Lima

3.2 Materiales

3.2.1 Población: Todos los métodos analíticos por destilación fraccionada del laboratorio Roker Peru S.A

3.2.2. Muestra: Método analítico por destilación fraccionada para la cuantificación del alcohol isopropílico en soluciones con gluconato de clorhexidina.

3.2.3 Material químico.

Constituido por 102 muestras de frascos de 100 mL elaborados de alcohol isopropílico en una solución con gluconato de clorhexidina

3.3 Diseño metodológico

3.3.1 Determinación del peso específico del alcohol isopropílico como materia prima a una T° de 20°C

- Se seleccionó el picnómetro limpio y seco previamente calibrado.
- Se determinó el peso del picnómetro vacío.
- Se determinó el peso del picnómetro con agua purificada a 20°C.
- Se determinó el peso con el alcohol isopropílico de la materia prima, se aplicó la fórmula para determinar el peso específico.

$$PE_{20^{\circ}C} = \frac{\text{Peso del picnómetro con la muestra} - \text{Peso del picnómetro vacío}}{\text{Peso del picnómetro con agua} - \text{peso del picnómetro vacío}} \quad (1)$$

Dónde $PE_{20^{\circ}C}$: Peso específico obtenido experimentalmente a una temperatura de 20°C.

Se uso las tablas críticas internacionales de alcohol isopropílico, se ubicó el peso específico a 20°C se realizó la lectura en columna de concentración del alcohol isopropílico. Se extrapolo el dato obtenido

Tabla 4. Peso específico obtenido vs concentración de alcohol isopropílico como materia prima (Tablas críticas internacionales de alcohol isopropílico (C₃ H₇ OH))⁴⁷

%C	P.E. 20°
95	0,7973
96	0,7949
97	0,7925
98	0,7901
99	0,7877
100	0,7854

- Se trabajó con la nueva concentración obtenida del alcohol isopropílico como materia prima

3.3.2 Determinación de pesos del alcohol isopropílico que se tomaron para cada concentración

- Se determinó los pesos de alcohol isopropílico para cada concentración establecida en cada parámetro de validación, se tomó en cuenta el peso específico de alcohol isopropílico y la concentración obtenida, como materia prima, se realizó con la siguiente formula.

$$m_{IPA} = \frac{[sol_{final}] \times V_{Total\ solución} \times PE_{IPA\ 20^{\circ}}}{[]_{IPA_{20^{\circ}C}}} \dots\dots (2)$$

Dónde:

m_{IPA} : Masa del alcohol isopropílico para cada 100 mL de solución.

$[sol_{final}]$: Concentración final de la muestra (v/v).

$V_{Total_{sol}}$: Volumen total de la muestra

$PE_{20^{\circ}}$: Peso específico del alcohol isopropílico a 20°C.

$[]_{IPA_{20^{\circ}C}}$: Concentración del alcohol isopropílico en (p/p)

3.3.3 Determinación de pesos de gluconato de clorhexidina que se tomaron para cada concentración p/p (concentración a la que se espera llegar 2g%)

$$\begin{matrix} 2g-----100\% \\ X-----\% \end{matrix} \quad (3)$$

Donde:

2g : Gramos que representa la concentración del producto p/p.

100% : Porcentaje el cual se encuentre el producto.

% : Porcentaje a la cual se desea calcular

X : Gramos que represento la nueva concentración

3.3.4 Determinación del peso de gluconato de clorhexidina p/v (Concentración de gluconato de clorhexidina = 20.7 como materia prima y densidad = 1.064)

$$C_1 V_1 = C_2 V_2 \dots\dots\dots(4)$$

$$20.7 \text{ g} \times V_1 = 2 \text{ g} \times 100\text{mL}$$

$$V_1 = 9.6618\text{mL}$$

$$m \text{ (g)} = \text{ mL} * \rho$$

Dónde:

C₁ : Concentración de la materia prima.

V₁ : Volumen que se tomara

C₂ : Concentración del producto terminado.

V₂ : Volumen del lote a preparar.

m (g) : Peso del producto a tomar.

9.6618mL : Volumen de la muestra que varío de acuerdo a cada concentración calculada

D : Densidad de la muestra a pesar (g/mL).

3.3.5 Preparación de muestras

a.- Muestras para linealidad de sistema

Una vez calculado las concentraciones, se procedió a pesar el alcohol isopropílico (p/p) y llevar con aguar purificada c.s.p 100 mL

- Se procedió la destilación del alcohol isopropílico mediante el procedimiento de destilación fraccionada.

b.- Muestras para linealidad de método

- Una vez calculada las concentraciones se procedió a pesar el alcohol isopropílico (p/p) y gluconato de clorhexidina (p/v).
- Se realizó la mezcla de estas ambas soluciones y se enraza con agua purificada c.s.p para 100mL.
- Se procedió la destilación del alcohol isopropílico mediante el procedimiento de destilación fraccionada.

C.- Muestras para precisión, exactitud, selectividad y robustez

Para la preparación de las muestras se trabajó de la misma forma que linealidad de método.

3.3.6 procedimiento de la destilación del alcohol isopropílico 70% v/v

- a) Se tomó 100 mL de la muestra preparada, en una probeta graduada se transvasó a un balón de destilación de fondo plano de capacidad de 1L en seguida se agregó 150 mL de agua purificada se agito suavemente.

- b) Continuación, se realizó el acoplamiento del equipo de destilación fraccionada de la siguiente manera:
- b.1) Se colocó el balón con la muestra, sobre el manto de calentamiento, se subió el manto de calentamiento conjuntamente con la muestra en dirección de la columna de fraccionamiento previamente armada se colocó sus respectivos adaptadores, se conectó la manguera de entrada y salida de agua al grifo que se aseguró la refrigeración del destilado; se programó el tiempo de destilación y temperatura (tiempo de destilación aproximadamente 70- 90 minutos y temperatura 82°C).
- c) Se destiló hasta la formación de rocío en el bulbo de enfriamiento (donde indicó la ausencia de alcohol isopropílico). El destilado se recogió en una probeta de 100 mL con sistema de enfriamiento acoplado al equipo de destilación fraccionada.
- d) Una vez obtenido el destilado, se recogió en un matraz volumétrico de 100 mL, se llevó a volumen final con agua purificada, se agitó la solución, se atemperó hasta alcanzar los 18°C.

3.3.6 Calcular el peso específico de la solución destilada

Se trabajó con la muestra atemperada obtenida del destilado de alcohol isopropílico.

- Se seleccionó el picnómetro limpio y seco previamente calibrado.
- Se determinó el peso del picnómetro vacío.
- Se determinó el peso del picnómetro con agua purificada a 20°C.
- Se determinó el peso con el alcohol isopropílico de la solución destilada, se aplicó la fórmula.

$$PE_{20^{\circ}/20^{\circ}} = \frac{\text{Peso del picnómetro con la muestra} - \text{Peso del picnómetro vacío}}{\text{Peso del picnómetro con agua} - \text{peso del picnómetro vacío}}$$

Dónde:

$PE_{20^{\circ}C}$: Peso específico obtenido experimentalmente a una temperatura de 20°.

3.3.7 Contenido el alcohol Isopropílico.

Se usó las tablas críticas internacionales de alcohol isopropílico⁴⁶, se ubicó el peso específico a 20°C se realizó la lectura en la columna de volumen del alcohol isopropílico para cada 100 mL. Si es necesario extrapolar los datos obtenidos experimentalmente.

-

Tabla 5. Peso específico obtenido vs % volumen de alcohol isopropílico (Tablas críticas internacionales de alcohol isopropílico (C₃ H₇ OH))⁴⁷

N°	P.E 20°C	%V/V (IPA)
1	0,8921	61,4800
2	0,8896	62,7732
3	0,8874	64,0737
4	0,8850	65,3595
5	0,8825	67,9887
6	0,8800	69,3182
7	0,8776	70,6472
8	0,8751	71,9918
9	0,8727	73,3356
10	0,8702	74,6955
11	0,8679	76,0456
12	0,8656	77,4030
13	0,8632	78,7766
14	0,8609	80,1487
15	0,8584	81,5471
16	0,8560	82,9439
17	0,8537	84,3388

3.3.8 DESARROLLO DE LOS PARAMETROS DE VALIDACIÓN

3.3.8.1 LINEALIDAD:

a.-Linealidad de sistema:

- Se tomó en cuenta la preparación de muestras para linealidad de sistema, donde se prepararon 5 concentraciones conocidas de 80% a 120%.
- Se preparó y se analizó por triplicado, siguiendo la fórmula (2) los resultados obtenidos para cada concentración del alcohol isopropílico como materia prima se encuentra en la tabla 6, después de la preparación de la muestra se procedió con su análisis correspondiente siguiendo el procedimiento de destilación del alcohol isopropílico.

b.-Linealidad de método:

- Se tomó en cuenta la preparación de muestras para linealidad de método.
- Se prepararon 5 concentraciones conocidas de 80% a 120% se preparó y se analizó por triplicado, siguiendo la fórmula (2),(3).(4), los resultados se encuentran en la tabla 7 después de la preparación de la muestra se procedió con su análisis correspondiente siguiendo el procedimiento de destilación del alcohol isopropílico.

Tabla 6. Pesos estimados de alcohol isopropílico (potencia de alcohol isopropílico 99,6957%v/v, peso específico: 0,7861) en referencia del 100% (70 mL) para el parámetro de linealidad de sistema.

Linealidad de sistema	% (V/V)	Peso Específico teórico	peso de alcohol isopropílico (g)	C.S.P (mL)
80%	56	0,9052	44,1559	100
90%	63	0,8917	49,6755	100
100%	70	0,8787	55,1950	100
110%	77	0,8661	60,7145	100
120%	84	0,8543	66,2340	100

Tabla 7. Pesos estimados de alcohol isopropílico (potencia de alcohol isopropílico 99,6957%v/v, peso específico: 0,7861) en referencia del 100% (70mL), Concentración de gluconato de clorhexidina = 20.7 como materia prima y densidad = 1.064 Para el parámetro de linealidad de método,

Linealidad de método	% (V/V)	Peso específico teórico	Peso de alcohol isopropílico (g)	Peso de gluconato de clorhexidina	Enrazado mL
80%	56	0,9052	44,1559	8,2242	100
90%	63	0,8917	49,6755	8,6957	100
100%	70	0,8787	55,1950	10,2802	100
110%	77	0,8661	60,7145	10,6280	100
120%	84	0,8543	66,2340	12,3478	100

CALCULOS QUE SE REALIZARON PARA LOS PARAMETROS DE LINEALIDAD DE SISTEMA Y METODO

a. Cálculo de la recta de regresión:

Ecuación de la recta:

$$y = bx + a$$

Dónde:

x : Concentración del analíto.

y : valor de la respuesta de la concentración en volumen

b: valor de la pendiente de la recta.

a: valor del intercepto de la recta con el eje "y"

Fórmulas para hallar la pendiente "b":

$$b = \frac{n \sum XY - \sum X \sum Y}{n \sum X^2 - (\sum X)^2}$$

Fórmulas para hallar "a":

$$a = \frac{\sum X^2 \sum Y - \sum X \sum XY}{n \sum X^2 - (\sum X)^2}$$

a.1 Coeficiente de correlación "r":

El coeficiente de correlación "r", permite establecer si existe relación entre las variables **x** (Concentración) y **y** (Respuesta). “

$$r = \frac{n \sum XY - \sum X \sum Y}{\sqrt{[n \sum X^2 - (\sum X)^2][n \sum Y^2 - (\sum Y)^2]}}$$

a.2 Coeficiente de determinación:

Es el cuadrado del coeficiente de correlación "r²", indica la proporción de la varianza total de "y". Este debe ser mayor o igual a 0.990 para el ingrediente activo en una fórmula.

a.3 Interpretación estadística de la regresión lineal:

Test de hipótesis para demostrar regresión en función del coeficiente de correlación "r":

H₀ = Existe correlación entre x e y

H_a = no hay correlación entre x e y

Criterio de aceptación: Si el valor de "t" obtenido es mayor que el de "t" de la tabla, calculado para (n-2)⁴⁸ grados de libertad y un nivel de significación del 95% (probabilidad, p =0,05), entonces si hay correlación entre "x" e "y"

t_{tabla} : 2,160 para el alcohol isopropílico

n : 15

Cálculo de t_{exp}

$$T_{exp} = \frac{|r| \sqrt{(n-2)}}{\sqrt{(1-r^2)}}$$

Desviación estándar relativa de los factores de respuesta "f":

Criterio de aceptación: CV < 3%

Cálculo de "f":

$$f = \frac{Y}{X}$$

Donde:

Promedio de "f" :

Desviación estándar de "f (x)

Desviación estándar relativa de "f" (y)

b Test de Linealidad:

- **Cálculo de la varianza residual o error experimental: $S^2_{x,y}$.**

$$S^2_{XY} = \frac{\sum Y^2 - a \sum Y - b \sum XY}{n - 2}$$

Dónde:

n : Numero de muestras 15

n-2 : Grados de libertad para un grado de significancia de 95% ($\alpha = 0,05$).

- **Significación estadística de la varianza de la pendiente (b):**

Test de hipótesis para la pendiente "b":

H₀ : b es igual a cero.

H₁ : b es significativamente diferente de cero.

Cálculo de la varianza de la pendiente: S_b^2

$$S_b^2 = \frac{S^2_{X,Y}}{\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n}}$$

Dónde:

n : número de muestra 15

Cálculo de la desviación estándar de la pendiente: S_b

$$S_b = \sqrt{S_b^2}$$

Desviación estándar real:

$$S_{b \text{ real}\%} = \frac{S_b}{b} * 100$$

Cálculo de los límites de la pendiente

$$b \pm t_{\text{tabla}} * S_b$$

Donde "t_{tabla}" es el valor de la distribución de t de Student para (n-2)⁴⁸ grados de libertad y un grado de significación del 95% (probabilidad, $\alpha = 0.05$)

Cálculo del valor de "t" experimental (t_{tabla})

$$t_{\text{exp}} = \frac{|b|}{S_b}$$

Si $t_{\text{exp}} \gg t_{\text{tabla}}$; (2.160) para $\alpha = 0,05$ y (n-2)⁴⁸ grados de libertad, entonces" es significativamente diferente de cero y se rechaza la hipótesis nula (H₀).

Intervalo de confianza para la pendiente " b" :

e. Test de proporcionalidad.

Test de Hipótesis para el intercepto "a"

- Significación estadística de la varianza del intercepto "a".

H₀ : a es igual a 0.

H_1 : a es significativamente diferente de 0

Cálculo de la varianza del intercepto S_a^2 :

$$S_a^2 = S_b^2 * \frac{(\sum X)^2}{n}$$

Dónde:

S_b^2 : Variancia de la pendiente "b"

n : número de muestras 15

Desviación estándar S_a :

$$S_a = \sqrt{S_a^2}$$

Desviación estándar real:

$$S_{a\ real\%} = \frac{S_a}{a} * 100$$

Cálculo de los límites de confianza:

$$a \pm t_{tabla} * S_a$$

Cálculo del valor de "t" experimental (t_{tabla})

$$t_{exp} = \frac{|b|}{S_b}$$

Si $t_{exp} \lll t_{tabla}$; para $\alpha = 0,05$ (n-2)⁴⁸ grados de libertad, entonces se acepta la hipótesis nula y se concluye que la constante es estadísticamente igual a cero.

Intervalo de confianza para la constante "a":

3.3.8.2. PRECISION: Es un método analítico que generalmente expresa como el coeficiente de variación (CV) de una serie de mediciones. Estudia dos niveles:

• **Repetibilidad:** Evalúa el método (precisión intra-ensayo).

Analista 1: 6 muestras al 100% (análito mas placebo) los análisis se realiza por triplicado en un mismo día.(n = 18)

H_0 : Concentración promedio iguales a 100%

H_1 = Concentración promedio diferente a 100%

a. Prueba t de Student

$$t_{exp} = \frac{\bar{X} - 100}{\frac{S}{\sqrt{n}}}$$

b. Desviación estándar

$$CV(\%) = \frac{S}{\bar{X}} * 100$$

• **Precisión intermedia** (Repetibilidad): Evalúa la variación de analistas, equipo y día (precisión intra-laboratorio)

Analista 2: 6 muestras al 100% (análito más placebo) los análisis se realizan por triplicado en días diferentes.

- Se tomó en cuenta la preparación de muestras para linealidad de método.
- Se preparó una sola concentración al 100%, la diferencia entre la repetibilidad y precisión intermedia son los analistas y los días de trabajo.
- Se realizó la destilación de acuerdo al procedimiento de destilación del alcohol isopropílico.

a. Prueba de Fisher (f):

H_0 = No existe diferencias significativas entre las variabilidades del analíto.

H_1 = Si existe diferencias significativas entre las variabilidades del analíto

$$F_{exp} = \frac{S_1^2}{S_2^2}$$

Dónde:

S_1^2 = varianza obtenida del primer analista

S_2^2 = varianza obtenida del segundo analista

$F_{tabla} = 2.27$ ($\alpha=0.05$).

$F_{exp} < F_{tabla}$,

$n = 36$

b. Prueba t de Student

H_0 : Concentración promedio obtenida por cada operador son iguales

H_1 = Concentración promedio obtenida por cada operador son diferentes

$$t_{exp} = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{\frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)}}$$

t Student con $n_1 - n_2 - 2 g.l$

$t_{exp} < t_{tabla}$ (2.1098)

3.3.8.3. EXACTITUD

- Se tomó en cuenta la preparación de muestras para linealidad de método.
- Se prepararon 3 concentraciones conocidas de 80%, 100% y 120% se preparó y se analizó por triplicado, siguiendo la fórmula (2),(3).(4) los resultados se encuentran en la tabla 8 y para el análisis se siguió el procedimiento de destilación del alcohol isopropílico

Tabla 8. Pesos estimados de alcohol isopropílico (potencia de alcohol isopropílico 99.6957%v/v, peso específico: 0.7861), en referencia del 100% (70 mL, Concentración de gluconato de clorhexidina 20.7% como materia prima y densidad: 1.064) para el parámetro de exactitud.

Exactitud	% (V/V)	Peso específico teórico	Peso de alcohol isopropílico (g)	Peso de gluconato de clorhexidina	Enrazado mL
80%	56	0,9052	44,1559	8,2242	100
100%	70	0,8787	55,1950	10,2802	100
120%	84	0,8543	66,2340	12,478	100

a. Determinación del Porcentaje de Recuperación:

$$\% REC = \frac{CMR}{Cantidad\ agregada} * 100$$

Además: 98 % ≤ % REC ≤ 102 % Para el método por destilado.

Dónde:

%REC : Porcentaje de recuperación

CMR : Cantidad de analito hallado

b. Aplicación de test de "G" de Cochran:

H₀ = No existe diferencias significativas entre las variabilidades de la recuperación media y la cantidad añadida del analito.

H₁ = Si existe diferencias significativas entre las variabilidades de la recuperación media y la cantidad añadida del analito.

Criterio de aceptación: Si el "G" experimental es menor al "G" de las tablas, para (n-1) grados de libertad y un nivel de significancia del 5%, entonces no existe diferencias significativas entre las variantes, recuperación media y el valor ideal 100.

Cálculo de "G" experimental:

$$G_{exp} = \frac{S_{max}^2}{\sum S_i^2} < G_{tabla}$$

Dónde:

S_{max}² : Desviación estándar máximo de 3 grupos comparados.

∑ S_i² : Sumatoria de las desviaciones estándar

Valores críticos para G teórica o de tablas:(α=0.05)

$$Si G_{exp} < G_{tablas}$$

c. Aplicación de test de "t" de Student:

H₀ = No existe diferencias significativas entre la recuperación media y el valor ideal 100.

H_1 = Si existe diferencias significativas entre la recuperación media y el valor ideal 100.

Criterio de aceptación: Si el "t" experimental es menor a "t" de las tablas, para (n-1) grados de libertad y un nivel de significancia del 5%, entonces se acepta la H_0 Cálculo de "t" experimental:

$$T_{exp} = \frac{|100 - R_{prom}| \sqrt{n}}{CV} < T_{tabla}$$

Rprom : Porcentaje de recuperación promedio de todos los datos.

n : Número de mediciones 9

CV : coeficiente de variación del total de mediciones.

$$\text{Si } t_{exp} < t_{tablas}$$

3.3.8.4 SELECTIVIDAD

a.-Muestra propiamente dicha:

- Se continuó el procedimiento de la preparación de muestras para linealidad de método de alcohol isopropílico en soluciones con gluconato de clorhexidina.
- Se midió 100 mL de la muestra preparada en una probeta, se transvasó al balón de destilación 1L y se agregó 150 mL de agua purificada.
- Se continuo con la destilación siguiendo el procedimiento de destilación del alcohol isopropilico, finalmente se determinó el porcentaje del alcohol isopropílico.

b Muestra sin alcohol isopropílico

- Se preparó muestras con gluconato de clorhexidina y agua purificada.
- Se midió 100 mL de la muestra preparada en una probeta, se transvasó al balón de destilación 1L y se agregó 150mL de agua purificada.
- Se continuo con la destilación siguiendo el procedimiento de destilación del alcohol isopropilico.
- Se determinó el porcentaje del alcohol isopropílico.

c. Determinación de alcohol isopropílico con el agua utilizada para dilución de muestra antes del proceso de destilado:

- Se preparó muestras con agua purificada.
- Se midió 100 mL de la muestra preparada en una probeta, se transvasó al balón de destilación 1L y se agregó 150 mL de agua purificada.
- Se continuo con la destilación siguiendo el procedimiento de destilación del alcohol isopropilico.
- Se determinó el porcentaje del alcohol isopropílico.

d.- Determinación de alcohol isopropílico en muestras sometidas a estrés.

Se analizó las muestras sometidas a condiciones drásticas de degradación, se continuo el procedimiento de la preparación de muestras para linealidad de método de alcohol isopropílico en soluciones con gluconato de clorhexidina

d.1 Hidrólisis Alcalina:

- Se midió 100 mL de la muestra preparada en una probeta, se transvasó a un matraz de 250 mL
- Se agregó 3 mL hidróxido de sodio 2 M
- Se dejó en reposo por 3 horas
- Se neutralizo la muestra reposada con 3 mL de ácido clorhídrico 2 M,
- Se transvaso al balón de destilación 1L y se agregó 150 mL de agua purificada.
- Se continuo con la destilación siguiendo el procedimiento de destilación del alcohol isopropílico.
- Se determinó el porcentaje del alcohol isopropílico.

d.2 Hidrólisis Ácida:

- Se midió 100 mL de la muestra preparada en una probeta, se transvasó a un matraz de 250 mL.
- Se agregó 3 mL ácido clorhídrico 2 M.
- Se dejó en reposo por 3 horas
- Se neutralizo la muestra reposada con 3 mL de hidróxido de sodio 2 M,
- Se transvaso al balón de destilación 1L y se agregó 150 mL de agua purificada.
- Se continuo con la destilación siguiendo el procedimiento de destilación del alcohol isopropílico.
- Se determinó el porcentaje del alcohol isopropílico.

d.3 Oxidación:

- Se midió 100 mL de la muestra preparada en una probeta, se transvasó a un matraz de 250 mL
- Se agregó 2 mL de peróxido de hidrogeno 10 volúmenes
- Se dejó en reposo por 3 horas
- Se transvaso al balón de destilación 1L y se agregó 150 mL de agua purificada.
- Se continuo con la destilación siguiendo el procedimiento de destilación del alcohol isopropilico.
- Se determinó el porcentaje del alcohol isopropílico.

d.4 Determinación del alcohol isopropílico en presencia de sustancias relacionadas.

d.4.1 Muestra preparada con Metanol en lugar de alcohol isopropílico.

- Se continuó el procedimiento de la preparación de muestras para linealidad de método de alcohol isopropílico en soluciones con gluconato de clorhexidina.
- En este caso se cambia el alcohol isopropílico por metanol preparación de la muestra.
- En un matraz volumétrico de 200 mL se medio 140 mL de metanol (equivalente a 70% de metanol v/v) de metanol y se llevó a volumen final con agua purificada.
- Se midió 100 mL de la muestra preparada en una probeta.
- Se transvasó al balón de destilación 1L y se agregó 150 mL de agua purificada.
- Se continuo con la destilación siguiendo el procedimiento de destilación del alcohol isopropílico.
- Se determinó el porcentaje del alcohol isopropílico.

d.4.2 Muestra preparada con Alcohol etílico en lugar del alcohol isopropílico.

- Se continuó el procedimiento de la preparación de muestras para linealidad de método de alcohol isopropílico en soluciones con gluconato de clorhexidina.
- En este caso se cambia el alcohol isopropílico por alcohol etílico. Preparación de la muestra.
- En un matraz volumétrico de 200 mL se peso 115.781 g de alcohol etílico se llevó a volumen final con agua purificada.
- Se midió 100 mL de la muestra preparada en una probeta.
- Se transvasó al balón de destilación 1L y se agregó 150 mL de agua purificada.
- Se continuo con la destilación siguiendo el procedimiento de destilación del alcohol isopropílico.
- Se determinó el porcentaje del alcohol isopropílico.

3.3.8.5 ROBUSTEZ:

- Se continuo el procedimiento de la preparación de muestras para linealidad de método de alcohol isopropílico en soluciones con gluconato de clorhexidina.
- Se midió 100 mL de la muestra preparada en una probeta, se transvasó al balón de destilación 1L y se agregó 150 mL de agua purificada.
- Se continuo con la destilación siguiendo el procedimiento de destilación del alcohol isopropílico, finalmente se determinó el porcentaje del alcohol isopropílico.
- Se tomó en cuenta las condiciones de trabajo que muestran en la siguiente tabla.

Tabla 9: factores nominales y alternativas para la prueba de robustez según Yoden Steiner.

Factor	Valor (nominal)	Factor	Valor (alternativo)
A	Analista 1	a	Analista 2
B	100 mL de muestra diluida con 150 mL agua purificada	b	100 mL de muestra diluida con 200mL con agua destilada.
C	Equipo de destilador fraccionado.	c	Equipo de destilador simple
D	temperatura de la muestra preparada 20°	d	temperatura de la muestra preparada a 30
E	volumen del destilado 85 mL	e	volumen del destilado 93mL
F	tiempo de destilado 75min	f	tiempo de destilado 95min
G	Recepción de muestra inmediata	g	Recepción de muestra después de 24H

3.3.9 Determinar la pureza del alcohol isopropilico del destilado para los parámetros de linealidad de sistema, linealidad de método y selectividad.

Se tomó 10 mL del destilado de alcohol isopropílico para la lectura en el espectrofotómetro infrarrojo frente a una solución estándar.

3.4 Diseño experimental

G ----- O

G = Grupo de muestras, constituido por gluconato de clorhexidina y alcohol isopropilico.

O = Observaciones, que consiste en la cuantificación del alcohol isopropilico.

3.5 Análisis de datos: Se aplicó de acuerdo a los parámetros de validación: t de student, Fisher, test de cochran, Diseño factorial de Youden y Steiner.

IV. RESULTADOS

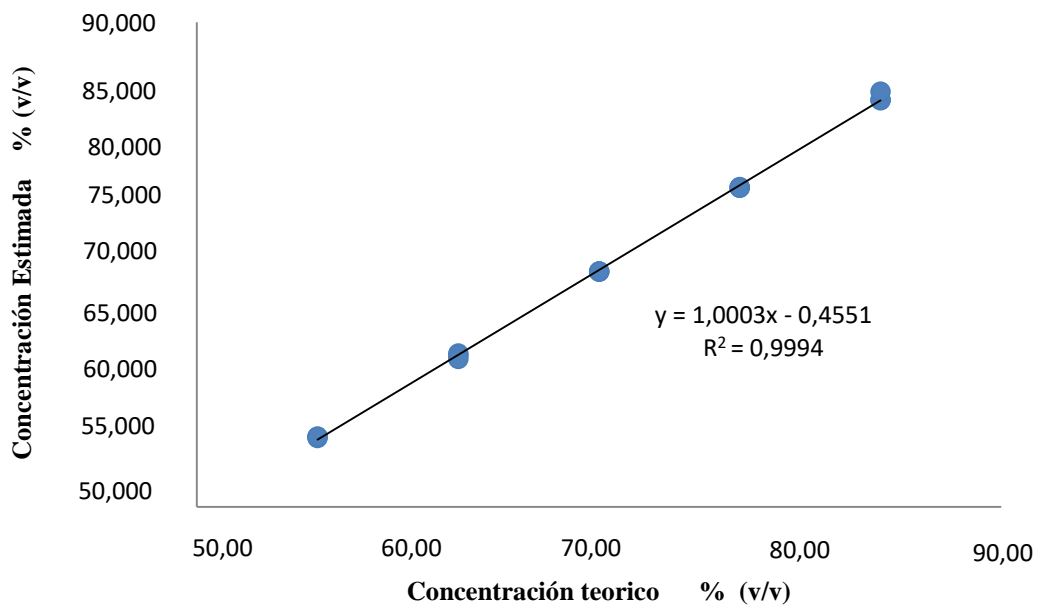


Figura 2: Porcentaje de la concentración teórica de alcohol isopropílico en relación a la concentración estimada, para el parámetro de linealidad de sistema en el laboratorio Roker Perú S.A -Lima 2018

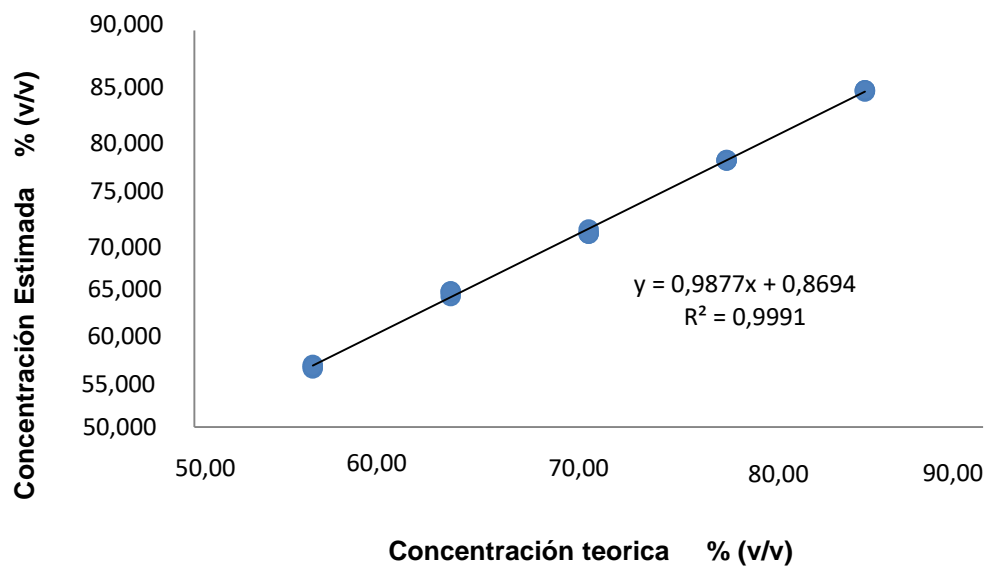


Figura 3: Porcentaje de la concentración teórica del alcohol isopropílico en relación a la concentración estimada, para el parámetro de linealidad de método en el laboratorio Roker Perú S.A -Lima 2018

Tabla 10: Pesos específicos y porcentaje de recuperación por cada muestra de trabajo, para el parámetro de precisión intermedia - Repetibilidad en el laboratorio Roker Perú S.A -Lima 2018

Muestras	Peso (pic+m) 20°	Peso esp. a 20°	Concentración obtenida % v/v	% Rec
100-1	36,0199	0,8787	70,0381	100,0544
100-1	36,0203	0,8788	69,9827	99,9753
100-1	36,0187	0,8786	70,0935	100,1335
100-2	36,0192	0,8787	70,0381	100,0544
100-2	36,0188	0,8786	70,0935	100,1335
100-2	36,0201	0,8788	69,9827	99,9753
100-3	36,0200	0,8787	70,0381	100,0544
100-3	36,0185	0,8786	70,0935	100,1335
100-3	36,0204	0,8788	69,9827	99,9753
100-4	36,0142	0,8781	70,3703	100,5290
100-4	36,0201	0,8788	69,9827	99,9753
100-4	36,0199	0,8787	70,0381	100,0544
100-5	36,0189	0,8786	70,0935	100,1335
100-5	36,0201	0,8788	69,9827	99,9753
100-5	36,0166	0,8784	70,2042	100,2917
100-6	36,0188	0,8786	70,0935	100,1335
100-6	36,0160	0,8783	70,2596	100,3708
100-6	36,0202	0,8788	69,9827	99,9753
Parámetros				Resultados
Promedio(x)				100,1071
Desviación estándar (s)				0,1535
Coeficiente de varianza (cv)				0,1533
Numero de datos				18
Alfa (α)				0,05
Grados de libertad (n-1)				17
t experimental				0,1647
t (tablas)				2,1098
t (experimental) < t (tablas)				

Tabla 11 Pesos específicos y porcentaje de recuperación de las muestras valoradas por los dos analistas y equipos diferentes en el parámetro de precisión intermedia en el laboratorio Roker Perú S.A -Lima 2018.

Muestras	Peso	Peso	Concentr.	Concentr.	% Rec	%
	(PIC+M) 20°(1)	(PIC+M) 20°(2)	obtenida % v/v(1)	obtenida % v/v (2)	Analista 1	Rec Analista 2
100-1	0,8787	0,8782	70,0381	70,3150	100,0544	100,4499
100-1	0,8788	0,8786	69,9827	70,0935	99,9753	100,1335
100-1	0,8786	0,8787	70,0935	70,0381	100,1335	100,0544
100-2	0,8787	0,8787	70,0381	70,0381	100,0544	100,0544
100-2	0,8786	0,8790	70,0935	69,8720	100,1335	99,8171
100-2	0,8788	0,8789	69,9827	69,9273	99,9753	99,8962
100-3	0,8787	0,8787	70,0381	70,0381	100,0544	100,0544
100-3	0,8786	0,8789	70,0935	69,9273	100,1335	99,8962
100-3	0,8788	0,8783	69,9827	70,2745	99,9753	100,3921
100-4	0,8781	0,8789	70,3703	69,9273	100,5290	99,8962
100-4	0,8788	0,8788	69,9827	70,0059	99,9753	100,0084
100-4	0,8787	0,8787	70,0381	70,0381	100,0544	100,0544
100-5	0,8786	0,8792	70,0935	69,7612	100,1335	99,6589
100-5	0,8788	0,8787	69,9827	70,0381	99,9753	100,0544
100-5	0,8784	0,8788	70,2042	69,9827	100,2917	99,9753
100-6	0,8786	0,8788	70,0935	69,9827	100,1335	99,9753
100-6	0,8783	0,8787	70,2596	70,0381	100,3708	100,0544
100-6	0,8788	0,8788	69,9827	69,9827	99,9753	99,9753
Parámetros					Resultado 1	Resultado 2
Promedio(x)					100,1071	100,0223
Desviación estándar (s)					0,1535	0,1826
Coeficiente de varianza (CV)					0,1533	0,1826
Numero de datos					18	18
Alfa (α)					0,05	0,05
Grados de libertad (n-1)					17	17
Valor de F Calculada						1,000
Valor de F Critico						2,272
t experimental						0,0057
t tablas						2,109
					F (experimental) < F (tablas)	
					t (experimental) < t (tablas)	

Tabla 12 Prueba de homogeneidad de varianzas de las muestras a diferentes concentraciones mediante el test de Cochran y prueba t parámetro de exactitud en el laboratorio Roker Perú S.A -Lima 2018.

Muestras	varianza de la muestra	Test de Cochran exper	Tes de Cochran tablas	t student expe	t student teórico
80%	0,1318				
100%	0,1335	0,3595	0,8709	1,9886	2,306
120%	0,1059				
			$G_{exp} < G_{tablas}$	$t_{exp} < t_{tablas}$	

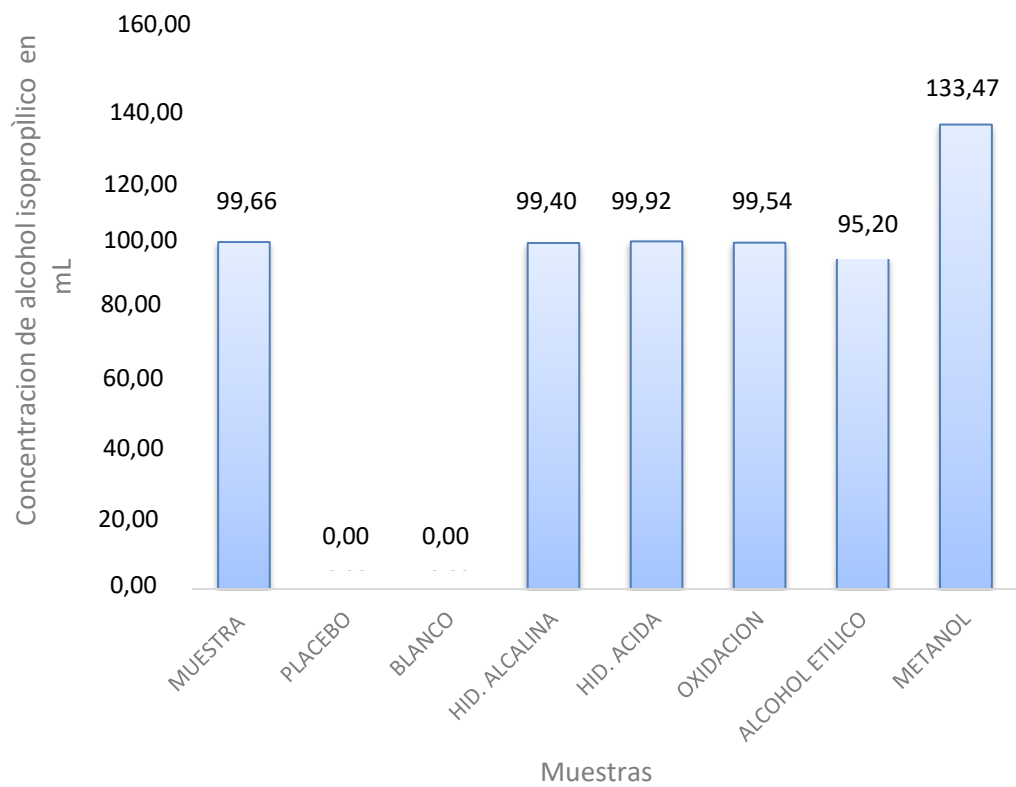


Figura 4: Concentraciones encontradas en diferentes muestras para el parámetro de selectividad en el laboratorio Roker Perú S.A - Lima 2018.

Tabla 13: Test de Youden y Steiner para el alcohol isopropílico obtenido en diferentes muestras con ciertos cambios en el proceso de análisis (factores de cambio). para el parámetro de robustez en el laboratorio Roker Perú S.A.-Lima 2018.

Condición Variable		Resultados (Promedio)		Diferencia	Comparación
Nominal	Alternativo	(X)	(x)	>X - <x	
X	x	(X)	(x)	>X - <x	dif < $\sqrt{2}$ Desv.= 0,2337
A	a	69,5351	69,5766	0,0415	No sensible a la Variable
B	b	69,6735	69,4382	0,2353	Sensible a la variable
C	c	69,5166	69,5951	0,0784	No sensible a la Variable
D	d	69,5166	69,5951	0,0784	No sensible a la Variable
E	e	69,5766	69,5582	-0,0185	No sensible a la Variable
F	f	69,5535	69,5582	0,0046	No sensible a la Variable
G	g	69,6366	69,4751	-0,1615	No sensible a la Variable

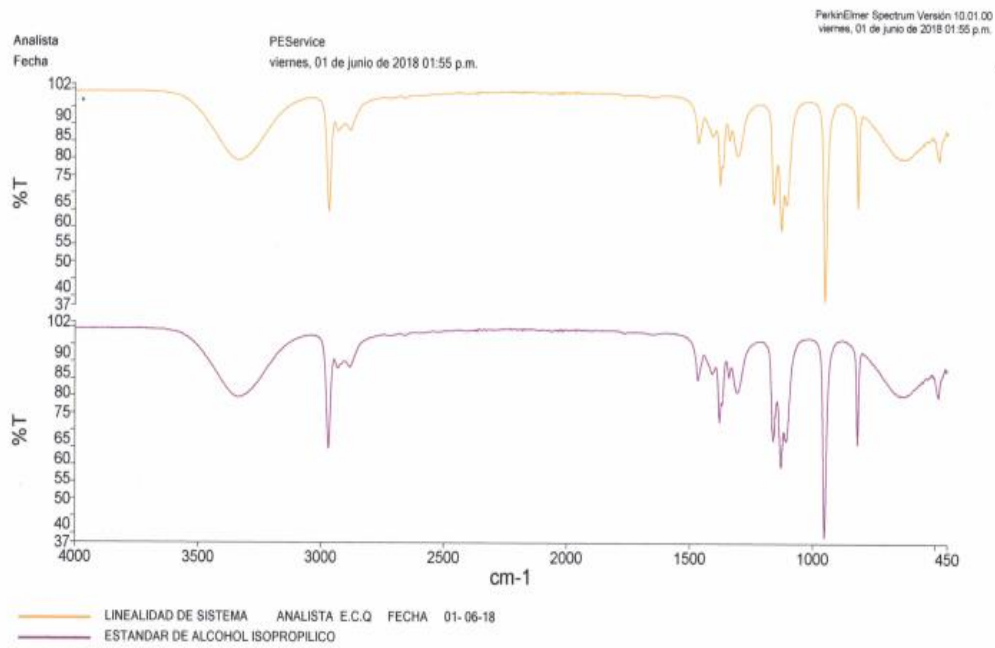


Figura 5: Determinación del alcohol isopropílico por Espectrofotómetro Infrarrojo (IR) de la muestra destilada, en el parámetro de linealidad de sistema en el laboratorio Roker Perú S.A.-Lima 2018.

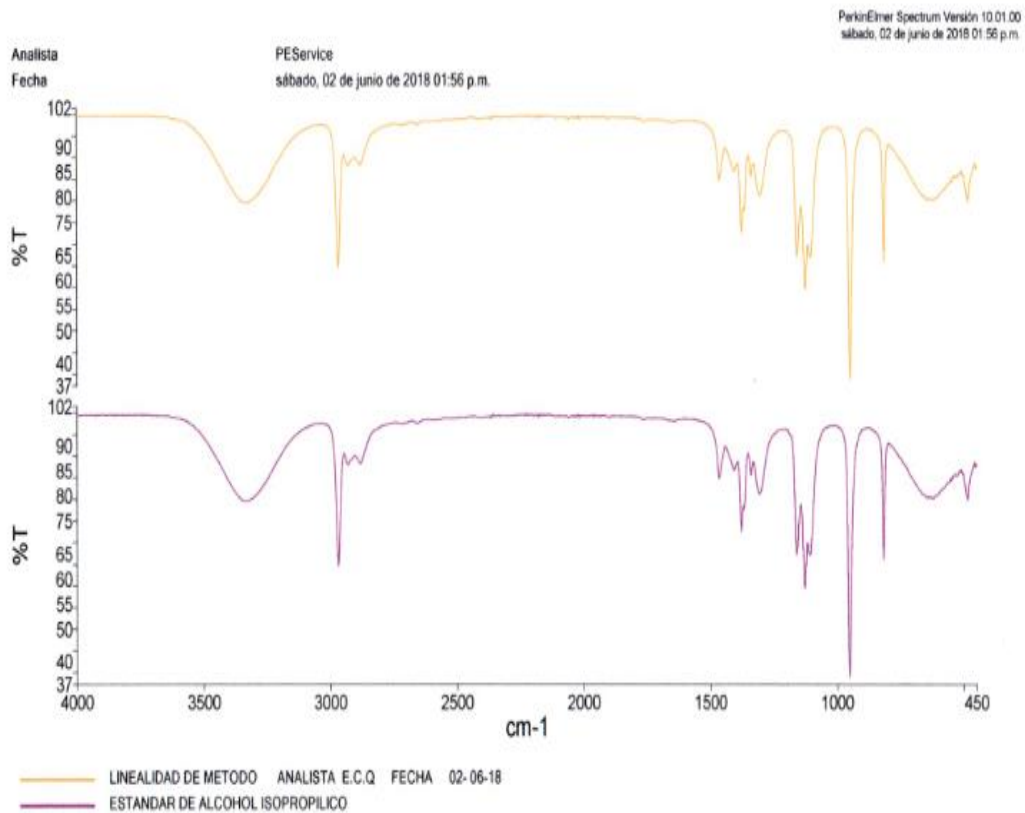


Figura 6: Determinación del alcohol isopropílico por espectrofotómetro infrarrojo (IR) de la muestra destilada para el parámetro de linealidad de método en el laboratorio Roker Perú S.A -Lima 2018.

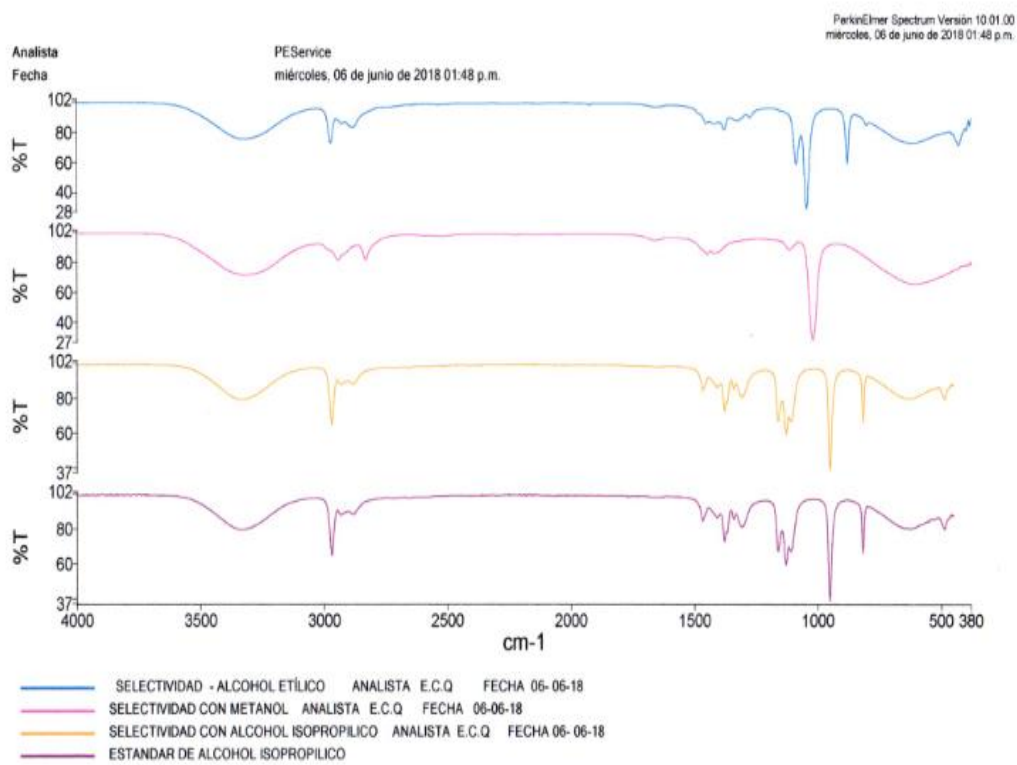


Figura 7: Determinación del alcohol isopropílico y otros alcoholes por espectrofotómetro Infrarrojo (IR) de la muestra destilada para el parámetro de selectividad en el laboratorio Roker Perú S.A 2018.

V. DISCUSIÓN

En el presente trabajo de investigación se evaluó y demostró la validez del método analítico por destilación fraccionada para la cuantificación de alcohol isopropílico cumpliendo así con los parámetros de validación según la USP 40, así mismo se determinó por espectrofotometría infrarroja la pureza del alcohol isopropílico obtenida del destilado este trabajo se realizó en Roker Perú S.A en el área de control de calidad.

En el figura 2 Porcentaje de la concentración teórica de alcohol isopropilico en relación a la concentración estimada para el parámetro de linealidad de sistema, se observa un coeficiente de correlación igual a 0,9997 el cual indica que existe una correlación entre la concentración teórica (x) y la concentración estimada (y), presenta una relación casi perfecta con los valores teóricos, así mismo se realizó la prueba t de Student ($t_{exp} 141,5830: \ggg t_{exp}: 2,160$) anexo (2) esta prueba demuestra que la correlación poblacional es significativamente diferente a cero lo cual refuerza el hecho de que la correlación muestra es cercana a 1. para grados de libertad la teoría estadística afirma que para dos parámetros en la ecuación de regresión se coge n-2 es debido a que se mide dos parámetros diferentes;, en el mismo anexo se muestra los resultados de la significación estadística de la desviación de la pendiente(b) es significativamente distinta a cero ($t_{exp} 141,5830: \ggg t_{exp}: 2,160$ el cual es mucho mayor que la t de tablas, en que el intervalo de confianza no se incluye al cero 0,985 – 1,0255 para un grado de significación igual a 0.05, para el caso de de test de proporcionalidad que permitió evaluar que la recta pasa por el origen, se observa los resultados ($t_{exp} 0,9111 \lll t_{tabla} 2,160$) de la misma forma se representa el intervalo de confianza ($-1,53392 - 0,6237$) que contiene al cero se estaría probando que el intercepto es igual a cero, es decir que la recta pasa por origen de coordenadas. Según investigadores Zenteno y Moreno reportan valores mayores de 0.999, valor del estadístico de prueba ($t=812.87$) que se llega a una correlación aceptable.

En el anexo 3: Concentraciones conocidas, obtenidas según el método de destilado para el alcohol isopropílico y el factor hallado para cada intersección para el parámetro de linealidad del sistema, el coeficiente de variación del factor es 0,35657, indica que no existe una sensibilidad de una concentración a otra durante el destilado del alcohol isopropílico, así mismo el resultado obtenido se comparó con otros investigadores como Saccatoma y Contreras, mostraron un coeficiente de variación menores al 2% concluye que no existe viabilidad de una concentración a otra.

En la figura 3 Porcentaje de la concentración teórica del alcohol isopropílico en relación a la concentración estimada, para el parámetro de linealidad de método, se observa un coeficiente de correlación igual a 0,9991, el cual indica que existe una correlación entre la concentración teórica (x) y la concentración estimada (y), presenta una relación casi perfecta con los valores teóricos, así mismo se realizó la prueba t de Student ($t_{exp} 119,3071: \ggg t_{exp}: 2,160$) anexo (5) esta prueba demuestra que la correlación poblacional es significativamente diferente a cero lo cual refuerza el hecho de que la correlación muestra es cercana a 1, en el mismo anexo se muestra los resultados de la desviación de la pendiente (b) que es significativamente distinta a cero ($t_{exp} 119,3071: \ggg t_{exp}: 2,160$ el cual es mucho mayor que la t de tablas, el intervalo de confianza para la pendiente no se incluye al cero 0,98983 – 1,00559 para un grado de significación igual a 0.05, para el caso de test de proporcionalidad de las coordenada que permite evaluar que la recta pasa por el origen, se observa los resultados ($t_{exp} 1,48539 \lll t_{tabla} 2,160$) de la misma forma se representa el intervalo de confianza (-0,39484 – 2,13356) que contiene al cero se estaría probando que el intercepto es igual a cero, es decir que la recta pasa por origen de coordenadas. para grados de libertad la teoría estadística afirma que para dos parámetros en la ecuación de regresión se coge $n-2$ es debido a que se mide dos parámetros diferentes. Según investigadores contreras y Moreno reportan valores mayores de 0.999, valor del estadístico de prueba ($t=812.87$, $t = 1,224$) que se llega a una correlación aceptable, no se encuentran variabilidad de un ensayo a otro, que la recta pasa por el origen de las coordenadas.

En el anexo 6: Concentraciones conocidas, obtenidas según el método de destilado para el alcohol isopropílico y el factor hallado para cada intersección para el parámetro de linealidad de método, el coeficiente de variación del factor es 0,506, indica que no existe una sensibilidad de una concentración a otra durante el

destilado del alcohol isopropilico, así mismo el resultado obtenido se comparó con otros investigadores como Saccatoma y Contreras, mostraron un coeficiente de variación $cv = 1.056$ concluye que no existe viabilidad de una concentración a otra

Tabla 10: Pesos específicos y porcentaje de recuperación por cada muestra de trabajo, para el parámetro de precisión intermedia – Repetibilidad. Se aprecia la variabilidad del porcentaje de recuperación realizado por un analista en las mismas condiciones de trabajo; donde se obtiene $0,1533\%$ coeficiente de variancia relativa indica que no influye la variabilidad de una muestra a otra, la prueba de t de Student $t_{exp} 0,1647 \ll t_{tabla} 2,109$) existe homogeneidad en los porcentajes de recuperación de las repetición de cada análisis; se compararon estos resultados con los investigadores como Loaiza, Moreno y Saccatoma obtienen resultados de coeficiente de variación $0,373; 0,257$ y $0,762$ que no existe variabilidad de una recuperación a otra por el analista.

Tabla 11: Pesos específicos y porcentaje de recuperación de las muestras valoradas por dos analistas, equipos y tiempos diferentes para el parámetro de precisión intermedia. Se realiza la prueba de Fisher siendo $F_{exp} 1,000 < F_{tabla}, 2,272$ esta prueba indica que las variabilidades estimadas para los porcentajes de recuperación obtenidas para cada analista, son iguales, es decir el analista, equipo y tiempo no influyen en la variabilidad del porcentaje de recuperación en cada muestra de trabajo. Se calcula la prueba de t Student, para comprobar la igualdad de promedios del porcentaje de recuperación, de cada análisis, $t_{exp} 0,0057 < t_{tabla}, 2,109$, esto indica que el analista, equipo y tiempo no influyen en el promedio del porcentaje de recuperación, el cual se demostró que el método es reproducible. Los resultados obtenidos se compararon con otros investigadores Moreno y Saccatoma obtienen resultados de variabilidad menores que su criterio de aceptación, se comprueba la desviación estándar de acuerdo a la prueba de Fisher menores a 3% criterio de aceptación para alcoholes superiores de acuerdo al estudio realizado.

Tabla 12: prueba de homogeneidad de varianzas de las muestras a diferentes concentraciones mediante el test de Cochran y prueba t parámetro de exactitud, se realiza la prueba del test de Cochran $G_{exp} 0,3595 < G_{tabla}, 0,8709$ las variabilidades observadas en cada una de las concentraciones, es decir no hay variabilidad de una concentración a otra, que el valor calculado es inferior al valor teórico, Así mismo se realiza la prueba de test de Student $t_{exp} 1,9889 < t_{tabla} 2.306$ para comprobar la diferencia significativa entre la recuperación media y el valor ideal 100

se concluye que el método es exacto, así mismo los datos obtenidos son comprados por otros investigadores como: Moreno y Saccatoma, reportan una variabilidad de concentración a otra 0,345; 0,423 respectivamente para un criterio de aceptación $\geq 3\%$ por lo tanto se puede afirmar que el método es exacto en base a los resultados obtenidos.

Figura 5: En cuanto a la selectividad, se realizó diferentes ensayos como especifica la metodología de trabajo los resultados de análisis de la muestra del producto terminado fueron expuestas a diferentes tipos de estrés hidrolisis acida, alcalina y oxidación, la recuperación del analíto se encuentra dentro del criterio de aceptación (98- 102%), además presentan coeficiente de variación de 0.08% que no hay diferencia significativa en cada estrés sometido, esta prueba se realiza para poder garantizar la estabilidad del producto; se realiza la comparación con diferentes tipos de alcoholes en la preparación de la muestra, siguiendo los mismos procedimientos de obtención del alcohol isopropilico, se utilizó alcohol etílico y metanol para ser comparados el porcentaje de recuperación de la muestra sin tratamiento con otros tipos de alcoholes a las mismas condiciones del producto, se observa que la recuperación para el alcohol etílico no se encuentra dentro del rango aceptable de la misma forma para recuperar el metanol supera el criterio de aceptación conclusión el método es selectivo únicamente para alcohol isopropilico así mismo se comparó con resultados con Saccatoma donde muestra sin estrés 98,95%, placebo y blanco 0%, hidrolisis alcalina es de 99,99%, hidrolisis acida 97,7%, oxidación es de 98,67%

Para complementar el parámetro de selectividad se determina las lecturas por espectrometría de infrarrojo después de cada destilado, comparados con un estándar de alcohol isopropílico que se observa en la figura 8, para cada tipo de alcohol, en comparación el alcohol isopropílico con el estándar no existe diferencia entre longitudes de onda, a diferencia de metanol y alcohol isopropílico que si hay cambios de acuerdo al tipo de alcohol.

En la figura 7 muestra determinación del alcohol isopropilico y otros alcoholes por espectrofotómetro Infrarrojo (IR) de la muestra destilada para el parámetro de selectividad, en esta graficas que muestran cada tipo de alcohol determinado a cada longitud de onda, para todo tipo de alcoholes existen dos características principales para poder diferenciarlo en una lectura por infrarrojo: la primera característica es que existe un estiramiento de bandas anchas simétricas por la formación de puentes de hidrogeno en una longitud de onda de 3500-3000 cm^{-1}

que se encuentra (O-H), la segunda característica (O-C) para distinguir el tipo de alcohol según el clasificación de alcoholes se encuentra en una longitud de onda de $1500 -1000 \text{ cm}^{-1}$, debido a las vibraciones de oxígeno, exactamente para alcoholes secundarios como el alcohol isopropílico la banda de O – C se encuentra en una longitud de onda de 1100 cm^{-1} , para alcohol primario que tomamos como muestra el alcohol etílico, la longitud de onda de O- C se encuentra en 1050 cm^{-1} , para metanol 1150 cm^{-1} , se distinguen para cada tipo de alcohol de acuerdo a las longitudes de onda que se muestra para cada tipo de alcohol por lo tanto se menciona que el método es selectivo solo para alcohol isopropílico, debido a las evidencias encontradas de acuerdo a la determinación de diferentes tipos de alcoholes, según Martínez muestra las mismas bandas en la obtención de los alcoholes superiores mediante cromatografía de gases e infrarrojo, por lo cual el método quedo validado por cumplir los parámetros establecidos. Puesto que los compuestos alcohólicos presentan en su mayoría densidad menor al del agua. La densidad aumenta de acuerdo al compuesto aromático de los alcoholes, se puede afirmar que el método es selectivo en base a los resultados obtenidos.

Figura 5 y 6 muestra lecturas de la determinación del alcohol isopropílico mediante la destilación, para los parámetros de linealidad de sistema y linealidad de método, los resultados son satisfactorios comparados con el estándar del alcohol isopropílico, se entiende que también que no existe interferencias significativas en la obtención de la muestra, tanto como alcohol /agua y alcohol/agua/gluconato, donde también se obtienen 100% de alcohol puro.

Tabla 13 muestra resultados de Test de Youden y Steiner para el alcohol isopropílico obtenido en diferentes muestras con ciertos cambios en el proceso de análisis, que la prueba de robustez expresa cambios para cada tipo de análisis que son siete factores y ocho experimentos, cumpliendo las condiciones que se estableció en la metodología, también se describe con detalle en el anexo 11, para esta prueba se tomó en cuenta las concentraciones obtenidas en cada experimento, los ensayos son robustos en los 6 factores, no obstante se recomienda controlar la cantidad de agua añadida debido a que este factor tiene una mayor influencia en los resultados cuando se usa un valor alternativo, que en los resultados obtenidos, los seis factores no superan la desviación estándar global en diferencia a las muestras individuales a excepción del experimento 2 (cantidad de agua añadida) que es 0,2353 que no es favorable $\text{dif} < 0,2337$, se concluye que el método es robusto para pruebas congruentes a los resultados. Comparando

con otros investigadores, como Loaiza y Martínez los resultados para estos parámetros tenían una variabilidad inferior a su variabilidad global por lo cual ellos concluyen que el método es robusto.

El desarrollo de los parámetros requiere personal calificado, instalaciones adecuadas, materiales calibrados, equipos calificados. Por ello el trabajo realizado con los resultados obtenidos no son diferentes cuando se compararon con diferentes investigadores se asemejan en algunos resultados y obteniendo resultados óptimos para una validación de método analítico, que la obtención del alcohol 100% puro, comprobó con la determinación en el infrarrojo.

VI. CONCLUSIONES

1. El método analítico por destilación fraccionada para la cuantificación del alcohol isopropílico en soluciones con gluconato de clorhexidina queda validado.
2. Se desarrolló los parámetros de validación del método analítico, cumpliendo las exigencias de la validación como: linealidad (linealidad de sistema y linealidad de método), exactitud, precisión (precisión intermedia, repetibilidad y reproducibilidad), selectividad y robustez en cada parámetro se obtuvo diferentes resultados, cumpliendo los criterios de aceptación como para linealidad de sistema test de linealidad $t_{exp} = 141,5830$, test de proporcionalidad $t_{exp} = 0,9111$; linealidad de sistema test de método $t_{exp} = 119,3071$, test de proporcionalidad $t_{exp} = 1,4854$; para exactitud se comprueba con el test de Cochran, en caso de precisión se demuestra la variabilidad de muestras de deben ser menores a 3%, para selectividad se observa que no existe interferencias en degradación de muestras, en robustez muestra el método que es robusto se comprobó la confiabilidad y seguridad, para la cuantificación analítica del alcohol isopropílico en soluciones con gluconato de clorhexidina.
3. Se determinó la pureza del alcohol isopropílico del destilado en los parámetros de linealidad de sistema, linealidad de método y selectividad, comprobando con las lecturas correspondientes, bajo longitud de onda determinada para el alcohol isopropílico.

VII. RECOMENDACIONES

- Recomendamos la aplicación del método analítico empleando la destilación fraccionada para la cuantificación de diferentes tipos de sustancias y espectrofotometría Infra rojo para la determinación o identificación de la pureza de sustancias.
- En los laboratorios de control de calidad se debe de considerar entre sus prioridades, la validación de sus métodos analíticos en uso rutinario sobre todo los métodos considerados como método propio.
- Se debe validar todos los métodos; así estos estén contemplados en las normas oficiales ya que las condiciones analíticas no son las mismas que aquellas con las que fueron concebidas.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Contreras J.L: Desarrollo de un proceso industrial para recuperar alcohol isopropílico de un residuo de ranitidina-Isopropanol-agua. Universidad Autónoma Metropolitana-Azcapotzalco 31 de octubre del 2011.
2. Zenteno Quijada, Matías R. Validación de la metodología analítica de determinación de etanol por cromatografía gaseosa con detector FID acoplada a la haeaspece en el servicio legal de Tenuco. Universidad Austral de Chile Facultad de ciencias Escuela de Química y Farmacia – Valdivia – Chile – 2011.
3. Moreno, Acevedo, Martínez J.; Fernández R.; Gonzales. Determinación de alcoholes superiores por cromatografía gaseosa, Validación preliminar del método. Universidad del Oriente Santiago de Cuba Revista cubana de química, Vol XVII número 1 pag 288 – 2010
4. Challco Achaya, Maritza. Efectividad del alcohol Isopropilico, Hipoclorito de Sodio, Ácido Peracético y clorhexidina en la desinfección de conos de gutapercha expuestos a *Enterococcus faecalis* Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas. Facultad de Ciencias de la Salud Lima – Perú 2017
5. Robles Anita, Morote, Mariel Castro, Delcy Paragulla, Wilson. Validacion del método de limpieza y sanitizacion para recintos de producción de radiofármacos Instituto Peruano de Energía Nuclear Lima-Peru 2013
6. Loaiza Eder, Quispe Yuri. Evaluación del método analítico colorimétrico de dosaje etílico frente al método de cromatografía de gases: estudio en bebedores sociales y diabéticos abstemios de la ciudad del cusco, determinación de Interferentes: especial interés en acetona e isopropanol Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco – Perú 2011
7. Howar J., Jower C., Faoagal J., Mokensie BB. New methd of asesing hand disinfection shors that pre- opertive alcohol/clorrhidinenub is a effective as a tradicional sugical scrub Hosp infect 2014 88,78,83, Lima –Peru 2014.
8. Saccatoma Contreras, Fernando. Validación de técnica analítica del alcohol etílico en productos farmacéutico sor destilación Laboratorio Roker Perú S.A Lima – 2013
9. Martínez Y. Gallardo A. López Morales. Obtención de alcoholes superiores a partir de fusel mediante proceso de destilación fraccionada Universidad Nacional Mayo de San Marcos Lima Octubre del 2011.

10. Dirección General de Medicamentos Insumos y Drogas (DIGEMID). Manual de Buenas Prácticas de Manufactura de Productos Farmacéuticos. Resolución Ministerial N° 055-99. SA/DM. Perú. 1996;27,-71.
11. Internacional Organization for Standardization. Sistemas de gestión de la calidad - Fundamentos y vocabulario (ISO – 9000: 2015). Disponible en <https://www.iso.org/home.html>
12. Ley N.º 29459 - Ley de los Productos Farmacéuticos, Dispositivos Médicos y Productos Sanitarios. Validación de métodos analíticos. Disponible www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoaded/PDF/DS016-2011-MINSA-2011
13. Internacional Organization for Standardization. Sistemas de gestión de la calidad – Directrices para la mejora del desempeño (ISO – 9004:2009) Disponible en las páginas Web: <http://www.iso.org> o <http://www.iso.org/tc176/sc2>
14. Joseph M. Manual de la calidad. editorial Mc Graw Hill interamericana de España 2002
15. Frederick M. Principios de garantía de calidad para laboratorios analíticos. Madrid: Edición española - 1991
16. Herramientas avanzadas para la calidad de <http://www.tuveras.com/calidad-generalidades.htm> recuperado el 20 de enero de 2014
17. Guía de la OMS sobre Requisitos de las Prácticas Adecuadas de Fabricación (PAF); Segunda Parte: Validación. Organización Mundial de la Salud. Ginebra 1998.
18. Salazar R. Introducción al Estudio de la Validación: Concepto y Generalidades. Validación Industrial. Barcelona: Romagraf; 1999. Pág. 10-18
19. Adalid J., Alavedra M., Amela J., Aparicio M., Beaus R.,. Cualificación y validación. 1ªed. Barcelona: Romagraf; 2007
20. Castro M., Gaston S., Pujol M., Validación de métodos analíticos. A.E.F.I. sección catalana Madrid -1998
21. Organización Panamericana de la salud Red Panamericana de Armonización de la Reglamentación Farmacéutica. Prácticas adecuadas de fabricación directrices sobre la validación de los procesos de fabricación. Documento N° 34 anexo 06 (monografía internet) Whashington.DC. Junio 2011 (citado 04 de marzo 2017) Disponible en <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/1639>.

22. . Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (A.E.F.I.). Validación de Métodos Analíticos, Comisión de Normas de la Correcta Fabricación y Control de calidad, Sección Catalana, España, 2001
23. Castillo B. Gonzales R. Protocolo de validación de métodos analíticos para la cuantificación de fármacos. Rev cubana Farm [revista en el internet]. 1996 [citado 18 de Mayo 2017]; 30(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s00375151996000100009&lng=es+
24. Organización de las Naciones Unidas. Oficina de las Naciones Unidas contra las drogas y el delito Directrices para la validación de métodos analíticos y la calibración del equipo utilizado para el análisis de drogas ilícitas en materiales incautados y especímenes biológicos [monografía en internet] New York; junio 2010. [citado 18 de mayo 2017]. Disponible en http://www.unodc.org/documents/scientific/Validacion-_Manual_STNAR41_Ebook_s.pdf.
25. Fauli Trillo. Tratado de Farmacia Galénica; Validación de Procesos y Analítica de Medicamentos; capítulo 7, pg 115-123; Madrid, 1996
26. Decreto Supremo N.º 016-2011/SA se aprobó el reglamento para registro, control y vigilancia sanitaria de productos farmacéuticos, dispositivos médicos y productos sanitarios, el cual dispone respectivamente en sus artículos sobre validación se encuentran el N.º 40, 53, 62, 70, 81, 93, y 104²⁴
27. Guideline for industry – text on validation of analytical procedures [en línea]. ICH Q2A; 1995 [citado 23 de marzo 2017]. URL disponible en: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/.../Guidances/ucm073381.pdf>
28. United States Pharmacopeia National Formulary. Validación de Procedimientos Farmacopeicos USP 40. - Estados Unidos de América. 2017. pp: 1952-1960
29. Guideline for industry – text on validation of analytical procedures [en línea]. ICH Q2A; 1995 [citado 23 de marzo 2017]. URL disponible en: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/.../Guidances/ucm073381.pdf>
30. Méndez S., Olivares A. Calificación de equipos de los Laboratorios Farmacéuticos Zaragoza. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de estudios Superiores Zaragoza. Tesis 2008.
31. Palomino E. Calificaciones en la Industria Farmacéutica. Seminario: Validaciones. Corporación Drogas. Farminustria. Lima, Abril 2008. Pág.1-5

32. Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme. Recommendations on Validation Master plan, installation and operational qualification, non-sterile process validation, cleaning validation. [en Internet] 1 July 2004. [citado el 14/ mar/ 2007, 13:44] Disponible en < [http:// ec.europa.eu / Enterprise / pharmaceuticals / eudralex / vol4/pdfs/en / cap2en200408.pdf](http://ec.europa.eu/Enterprise/pharmaceuticals/eudralex/vol4/pdfs/en/cap2en200408.pdf)
33. Acosta, J.; Rodríguez, I.; Donis, A.; Lodeiro, L.; Nuevas L. 2010. Separación de los componentes de la mezcla azeotrópica acetona–n-hexano mediante un proceso combinado: extracción líquido - líquido y destilación discontinua. Revista científica CENIC - Ciencias Biológicas, Vol. 41, 1: 37 - 42. La Habana, Cuba.
34. Fernández Germán. Destilación fraccionada, Sencilla y al Vacío química Orgánica disponible en [www/http ac. química organica.net](http://www.ac.quimicaorganica.net) 26/05/2012.
35. Alma Firidi Conceptos básicos de destilación fraccionada Editorial universal 2da Edición México 14 de marzo del 2013.
36. United States Pharmacopeia National Formulary. espectroscopia ir infrarrojo y práctica USP 40. -. Estados Unidos de América. 2017. pag: 2447-2457.
37. López I. Spectrophotometer, Instrument Manual. Hach Company, pag 32 (1999).
38. R. Alfonso Remington's. Pharmaceutical Sciences. Edición 17ª.. espectrofotómetro de infrarrojo Editorial Médica Panamericana S.A. Buenos Aires Argentina. Pag 1580-1581.
39. Günzler y Gremlich, Wiley- IR Spectroscopy, an introducción. VCH (2002) •
40. B. Stuart John Wiley Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications & Sons, (2004)
41. Callón Álvarez, Javier, Alcohol Isopropílico 2ra edición editorial Romargraf S.A. Barcelona España 2007 disponible en: [web // alcohol. org.es](http://web.alcohol.org.es)
42. Alvarado, C Manual de Farmacología. Primera edición. Editorial Emsergraf. Lima – Peru. 1999
43. Remington's Alfonso. Pharmaceutical Sciences. Edición 17ª.. mecanismo de acción de alcohol isopropílico Editorial Médica Panamericana S.A. Buenos Aires Argentina. Pag 578.
44. Obando Benites Dairo Samir. Química estructura y clasificación de los alcoholes domingo, 11 de agosto de 2013
45. García Héctor A. química orgánica editorial Lumbreras - 2001

46. Guillaume Charles-eduard y volet charles tablas críticas internacionales sistemas nacionales y locales de pesos y medidas
47. F. Williams. Razonamiento estadístico. 2º Ed. México: Interamericana; 1982.
48. Canavos George C. Probabilidad estadística aplicaciones y métodos segunda edición 2003- editorial canavos México pag 25,52

IX. ANEXOS

Anexo 1. Tabulación de los datos del peso de picnómetro con la muestra y pesos específicos de la destilación obtenida a diferentes concentraciones. Para el parámetro de linealidad de sistema Roker Perú S.A Lima -2018.

	Muestra	Peso (pic+m) 20°	Peso esp. a 20°	% (v/v)	%(v/v) tabla 20°
1	M 1 - 80%	36,2801	0,9056	55,78711	56,00
	M 2 - 80%	36,2818	0,9058	55,68646	
	M 3 - 80%	36,2798	0,9056	55,78711	
2	M 1 - 90%	36,1516	0,8923	62,66920	63,00
	M 2 - 90%	36,1538	0,8926	62,51310	
	M 3 - 90%	36,1601	0,8932	62,20100	
3	M 1 - 100%	36,0302	0.8798	69,42895	70,00
	M 2 - 100%	36,0305	0.8798	69,42895	
	M 3 - 100%	36,0298	0.8798	69,42895	
4	M 1 - 110%	35,9093	0.8673	76,39968	77,00
	M 2 - 110%	35,9098	0.8674	76,34067	
	M 3 - 110%	35,9100	0.8674	76,34067	
5	M 1 - 120%	35,7890	0.8549	83,61100	84,00
	M 2 - 120%	35,7898	0.8550	83,55040	
	M 3 - 120%	35,7780	0.8538	84,27820	

Datos:

Peso de Picnómetro vacío 20° : 27,5046 g

Peso de Picnómetro + H₂O 20° : 37,1948 g

Peso de agua a 20° : 9,6902g

Anexo 2. Tabulación de datos de concentración teórica y la concentración estimada según el método de destilación fraccionada para el alcohol isopropílico a diferentes concentraciones en el parámetro de linealidad de sistema Roker Perú S.A Lima -2018.

Volumen teórico (X)	Volumen estimado (Y)	XY	X ²	Y ²
56,00	55,7871	3124,07827	3136	3112,2019
56,00	55,6865	3118,44198	3136	3100,9823
56,00	55,7871	3124,07827	3136	3112,2019
63,00	62,6692	3948,15960	3969	3927,4286
63,00	62,5131	3938,32530	3969	3907,8877
63,00	62,2010	3918,66300	3969	3868,9644
70,00	69,4290	4860,02650	4900	4820,3791
70,00	69,4290	4860,02650	4900	4820,3791
70,00	69,4290	4860,02650	4900	4820,3791
77,00	76,3997	5882,77523	5929	5836,9108
77,00	76,3407	5878,23122	5929	5827,8972
77,00	76,3407	5878,23122	5929	5827,8972
84,00	83,6110	7023,32400	7056	6990,7993
84,00	83,5504	7018,23360	7056	6980,6693
84,00	84,2782	7079,36880	7056	7102,8150
ΣX_i	ΣY_i	$\Sigma(X*Y)$	$\Sigma(X)^2$	$\Sigma(Y)^2$
1050,00	1043,4514	74511,990	74970,00	74057,7928
Parámetros			Resultados	
Intercepto (a)			-0,45508	
Pendiente (b)			1,00026	
R			0,9997	
r ²			0,9994	
Test de linealidad				
t _{exper} (b)(r) >>> t _{tablas} (2,160)			141,5830	
Intervalo de confianza para la pendiente			0,985-1,0255	
Test de proporcionalidad				
t _{exper} (a) <<< t _{tablas} (2,160)			0,9111	
Intervalo de confianza de la variable dependiente			-1,53392-0,6237	

Ecuación de la recta:

$$Y = b * X + a$$

Dónde:

- X : Concentración del analíto
- Y : valor de la respuesta del analíto según el método.
- b : valor de la pendiente de la recta.
- a : valor del intercepto de la recta con el eje "y"

Anexo 3. Concentraciones conocidas, obtenidas según el método de destilado para el alcohol isopropílico y el factor hallado para cada intersección de la linealidad del sistema realizado en el laboratorio. Roker Perú S.A.-Lima 2018.

Muestras	Volumen conocido (y)	volumen obtenido (x)	factor $f=y_i/x_i$
M 1 - 80%	56,00	55,7871	0,9962
M 2 - 80%	56,00	55,6865	0,9944
M 3 - 80%	56,00	55,7871	0,9962
M 1 - 90%	63,00	62,6692	0,9947
M 2 - 90%	63,00	62,5131	0,9923
M 3 - 90%	63,00	62,2010	0,9873
M 1 - 100%	70,00	69,4290	0,9918
M 2 - 100%	70,00	69,4290	0,9918
M 3 - 100%	70,00	69,4290	0,9918
M 1 - 110%	77,00	76,3997	0,9922
M 2 - 110%	77,00	76,3407	0,9914
M 3 - 110%	77,00	76,3407	0,9914
M 1 - 120%	84,00	83,6110	0,9954
M 2 - 120%	84,00	83,5504	0,9946
M 3 - 120%	84,00	84,2782	1,0033
SUMA			14,90507
PROMEDIO			0,99367
DESVIACION ESTANDAR			0,00354
COFICIENTE DE VARIANZA (CV%)			0,35657

Anexo 4. Tabulación de los datos del peso de picnómetro con la muestra y pesos específicos de la destilación obtenida a diferentes concentraciones en el parámetro de linealidad de método realizado en el laboratorio Roker Perú S.A Lima -2018.

	Muestra	Peso (PIC+M) 20°	PESO ESP. A 20°	% (V/V) Obtenido	%(V/V) Tabla 20°
1	M 1 - 80%	36,2720	0,90470	56,2400	56,00
	M 2 - 80%	36,2781	0,90540	55,8878	
	M 3 - 80%	36,2748	0,90500	56,0891	
2	M 1 - 90%	36,1515	0,89230	63,6692	63,00
	M 2 - 90%	36,1600	0,89320	63,2010	
	M 3 - 90%	36,1523	0,89240	63,6171	
3	M 1 - 100%	36,0298	0,87970	69,4843	70,00
	M 2 - 100%	36,0219	0,87890	69,9273	
	M 3 - 100%	36,0295	0,87970	69,4843	
4	M 1 - 110%	35,9001	0,86640	76,9308	77,00
	M 2 - 110%	35,9002	0,86640	76,9308	
	M 3 - 110%	35,9011	0,86650	76,8718	
5	M 1 - 120%	35,7828	0,85430	83,9749	84,00
	M 2 - 120%	35,7848	0,85450	83,8536	
	M 3 - 120%	35,7828	0,85430	83,9749	

Datos:

Peso de Picnómetro vacío 20° : 27,5050 g

Peso de Picnómetro + H₂O 20° : 37,1951 g

Peso de agua a 20° : 9,6901g

Anexo 5. Tabulación de datos; concentración conocida y la concentración de respuesta según el método de destilación fraccionada para el alcohol Isopropílico a diferentes concentraciones para el parámetro de linealidad de método realizado en el laboratorio Roker Perú S.A Lima -2018.

volumen teórico(X)	volumen obtenido(Y)	XY	X ²	Y ²
56,00	56,24003	3149,44157	3136	3162,94075
56,00	55,88776	3129,71456	3136	3123,44172
56,00	56,08906	3140,98714	3136	3145,98220
63,00	63,66916	4011,15708	3969	4053,76194
63,00	63,20098	3981,66174	3969	3994,36387
63,00	63,61714	4007,87982	3969	4047,14050
70,00	69,48433	4863,90275	4900	4828,07142
70,00	69,92733	4894,91275	4900	4889,83078
70,00	69,48433	4863,90275	4900	4828,07142
77,00	76,93080	5923,67127	5929	5918,34732
77,00	76,93080	5923,67127	5929	5918,34732
77,00	76,87178	5919,12726	5929	5909,27096
84,00	83,97491	7053,89270	7056	7051,78602
84,00	83,85362	7043,70386	7056	7031,42915
84,00	83,97491	7053,89270	7056	7051,78602
ΣX_i	ΣY_i	$\Sigma(X*Y)$	$\Sigma(X)^2$	$\Sigma(Y)^2$
1050,00	1050,1369	74961,519	74970,00	74954,57139
Parámetros			Resultados	
Intercepto (a)			0,86936	
Pendiente (b)			0,98771	
R			0,99954	
r ²			0,99909	
Intervalo de confianza			0,98983 – 1,00559	
Test de linealidad				
t _{exper} (b)(r) >>> t _{tablas} (2.160)			119,3071	
Test de proporcionalidad				
t _{exper} (a) <<< t _{tablas} (2.160)			1,48539	
Intervalo de confianza			-0,39484- 2,13356	

Cálculo de la recta de regresión:

Ecuación de la recta:

$$Y = b * X + a$$

Dónde:

X : Concentración del analíto

Y : valor de la respuesta del analíto según el método.

b : valor de la pendiente de la recta.

a : valor del intercepto de la recta con el eje “y”

Anexo 6. Concentraciones teóricas, obtenidas según el método de destilado para el alcohol Isopropílico y el factor hallado para cada intersección del parámetro de linealidad del método realizado en el laboratorio Roker Perú S.A Lima -2018.

Muestra	Volumen conocido en c/100 ml (x)	Volumen obtenido (y)	factor $f=y_i/x_i$
m 1 - 80%	56,00	56,24003	1,00429
M 2 - 80%	56,00	55,88776	0,99800
M 3 - 80%	56,00	56,08906	1,00159
M 1 - 90%	63,00	63,66916	1,01062
M 2 - 90%	63,00	63,20098	1,00319
M 3 - 90%	63,00	63,61714	1,00980
M 1 - 100%	70,00	69,48433	0,99263
M 2 - 100%	70,00	69,92733	0,99896
M 3 - 100%	70,00	69,48433	0,99263
M 1 - 110%	77,00	76,93080	0,99910
M 2 - 110%	77,00	76,93080	0,99910
M 3 - 110%	77,00	76,87178	0,99833
M 1 - 120%	84,00	83,97491	0,99970
M 2 - 120%	84,00	83,85362	0,99826
M 3 - 120%	84,00	83,97491	0,99970
Suma			15,00591
Promedio			1,00039
Desviación estándar			0,005062
Coeficiente de varianza			0,506025

Anexo 7. Concentraciones encontradas y porcentaje de recuperación para el alcohol isopropílico en las muestras enriquecidas con placebo en el parámetro de exactitud en Roker Perú S.A.-Lima 2018.

MUESTRA	PESO	PESO	% (V/V)	Placebo +	
	(PIC+M) 20°	ESP. A 20°		Alc.	%REC
M 1 - 80%	36,2752	0,90510	56,0387		100,0691
1 M 2 - 80%	36,2748	0,90510	56,0387	56,00	100,0691
M 3 - 80%	36,2820	0,90580	55,6865		99,4402
M 1 - 100%	36,0217	0,87900	69,8720		99,8171
2 M 2 - 100%	36,0220	0,87900	69,8720	70,00	99,8171
M 3 - 100%	36,0298	0,87980	69,4290		99,1842
M 1 - 120%	35,7890	0,85490	83,6110		99,5369
3 M 2 - 120%	35,7840	0,85440	83,9143	84,00	99,8979
M 3 - 120%	35,7799	0,85400	84,1569		100,1867
Parámetros					Resultados
Numero de determinaciones					9
Grados de libertad (g.l) n-1					8
Suma % Rec					898,0184
Promedio					99,7798
Desviación estándar (S)					0,3314
Coeficiente de Variación (CV)					0,3322
$t_{\text{tabla}(n-1)}$					2,3006
t_{exp}					1,9886
$t_{\text{exp}} \ll t_{\text{tabla}}$					

Anexo 8. Muestras preparadas, pesos específicos, concentraciones estimadas y el porcentaje de recuperación del analito para el parámetro de precisión intermedia – Repetibilidad en el laboratorio Roker Perú S.A Lima -2018.

Muestras	peso (pic+m) 20°	peso esp. a 20°	% (v/v)	%Rec	
1	M 100	36,0297	0,8797	69,4843	99,2633
	M 100	36,0293	0,8797	69,4843	99,2633
	M 100	36,0301	0,8798	69,4290	99,1842
2	M 100	36,0301	0,8798	69,4290	99,1842
	M 100	36,0293	0,8797	69,4843	99,2633
	M 100	36,0315	0,8799	69,3736	99,1051
3	M 100	36,0312	0,8799	69,3736	99,1051
	M 100	36,0290	0,8797	69,4843	99,2633
	M 100	36,0270	0,8795	69,5951	99,4215
4	M 100	36,0315	0,8799	69,3736	99,1051
	M 100	36,0293	0,8797	69,4843	99,2633
	M 100	36,0302	0,8798	69,4290	99,1842
5	M 100	36,0315	0,8799	69,3736	99,1051
	M 100	36,0293	0,8797	69,4843	99,2633
	M 100	36,0310	0,8799	69,3736	99,1051
6	M 100	36,0237	0,8791	69,8166	99,7380
	M 100	36,0270	0,8795	69,5951	99,4215
	M 100	36,0296	0,8797	69,4843	99,2633

*volumen estimado con ayuda de la tabla de alcohol Isopropilico (Guillaume y Volet), a 20°.

Datos:

Peso de Picnómetro vacío 20° : 27,5050 g

Peso de Picnómetro + H₂O 20° : 37,1950 g

Peso de agua a 20° : 9,6900g

Anexo 9. Muestras preparadas, analizadas por diferentes analistas y las concentraciones recuperadas de alcohol isopropílico para el parámetro de precisión intermedia en el laboratorio Roker Perú S.A Lima -2018

	Muestra	Peso (pic+m) 20°	P.esp. a 20°	%(v/v)	%Rec
1	M 100	36,0297	0,8797	69,4843	99,2633
	M 100	36,0293	0,8797	69,4843	99,2633
	M 100	36,0301	0,8798	69,4290	99,1842
2	M 100	36,0301	0,8798	69,4290	99,1842
	M 100	36,0293	0,8797	69,4843	99,2633
	M 100	36,0315	0,8799	69,3736	99,1051
3	M 100	36,0312	0,8799	69,3736	99,1051
	M 100	36,0290	0,8797	69,4843	99,2633
	M 100	36,0270	0,8795	69,5951	99,4215
4	M 100	36,0315	0,8799	69,3736	99,1051
	M 100	36,0293	0,8797	69,4843	99,2633
	M 100	36,0302	0,8798	69,4290	99,1842
5	M 100	36,0315	0,8799	69,3736	99,1051
	M 100	36,0293	0,8797	69,4843	99,2633
	M 100	36,0310	0,8799	69,3736	99,1051
6	M 100	36,0237	0,8791	69,8166	99,7380
	M 100	36,0270	0,8795	69,5951	99,4215
	M 100	36,0296	0,8797	69,4843	99,2633
1	M 100	36,0200	0,8789	69,9273	99,8962
	M 100	36,0220	0,8791	69,8166	99,7380
	M 100	36,0230	0,8792	69,7612	99,6589
2	M 100	36,0250	0,8794	69,6505	99,5006
	M 100	36,0293	0,8798	69,4290	99,1842
	M 100	36,0289	0,8798	69,4290	99,1842
3	M 100	36,0230	0,8792	69,7612	99,6589
	M 100	36,0220	0,8791	69,8166	99,7380
	M 100	36,0235	0,8792	69,7430	99,6328
4	M 100	36,0250	0,8794	69,6505	99,5006
	M 100	36,0293	0,8798	69,4115	99,1592
	M 100	36,0289	0,8798	69,4290	99,1842
5	M 100	36,0230	0,8792	69,7612	99,6589
	M 100	36,0220	0,8791	69,8166	99,7380
	M 100	36,0235	0,8792	69,7612	99,6589
6	M 100	36,0250	0,8794	69,6505	99,5006
	M 100	36,0293	0,8798	69,4290	99,1842
	M 100	36,0289	0,8798	69,4290	99,1842

*volumen estimado con ayuda de la tabla de alcohol isopropílico (Guillaume y Volet 1925), a 20°.

Datos:

Peso de Picnómetro vacío 20° : 27,5047 g

Peso de Picnómetro + H₂O 20° : 37,1936 g

Peso del agua a 20° : 9,6889g

Anexo 10. Resultado del parámetro de Selectividad de método, de acuerdo al estrés sometido a las muestras y de sustancias relacionadas (análito mas placebo) y placebo solo en el laboratorio Roker Perú S.A Lima -2018.

Muestra	peso (pic+m) 20°	N° muestra	peso especifico a 20°	% (v/v)	%rec
Muestra	36,02400	1	0,8792	69,76120	99,6589
	36,02450	2	0,8792	69,76120	99,6589
	36,02400	3	0,8792	69,76120	99,6589
	36,02430	4	0,8792	69,76120	99,6589
Placebo	37,28960	1	1,0098	0,00000	0,0000
	37,27980	2	1,0088	0,00000	0,0000
	37,27950	3	1,0087	0,00000	0,0000
	37,28130	4	1,0089	0,00000	0,0000
Blanco	37,18980	1	0,9995	0,00000	0,0000
	37,18960	2	0,9995	0,00000	0,0000
	37,18500	3	0,9990	0,00000	0,0000
	37,18910	4	0,9994	0,00000	0,0000
Hidrolisis alcalina	36,02780	1	0,8796	69,5397	99,3424
	36,02620	2	0,8794	69,6504	99,5006
	36,02700	3	0,8795	69,5950	99,4215
	36,02780	4	0,8796	69,5397	99,3424
Hidrolisis acida	36,02060	1	0,8788	69,98270	99,9753
	36,02160	2	0,8789	69,92733	99,8962
	36,02200	3	0,8790	69,87195	99,8171
	36,02060	4	0,8788	69,98270	99,9753
oxidación	36,02620	1	0,8794	69,65045	99,5006
	36,02620	2	0,8794	69,65045	99,5006
	36,02600	3	0,8794	69,65045	99,5006
	36,02400	2	0,8792	69,76120	99,6589
Alcohol etílico	36,08600	1	0,8851	66,61223	95,1603
	36,08500	2	0,8849	66,67215	95,2459
	36,08530	3	0,88502	66,65581	95,2226
	36,08580	4	0,8851	66,61223	95,1603
Metanol	35,63210	1	0,8383	93,42789	133,4684
	35,63200	2	0,8383	93,42789	133,4684
	35,63220	3	0,8383	93,42789	133,4684
	35,63250	4	0,8383	93,42789	133,4684

Anexo 11. Test de Youden y Steiner para el alcohol isopropílico en concentraciones obtenidas para diferentes muestras con ciertos cambios en el proceso de análisis (factores de cambio) en el laboratorio Roker Perú S.A.-Lima 2018

CONDICION VARIABLE				ANALISIS							
tipo	clav	Nominal	Alternat	1	2	3	4	5	6	7	8
Analista	A,a	1	2	1	1	1	1	2	2	2	2
100 mL de muestra diluida	B,b	150	200	150	150	200	200	150	150	200	200
Equipo de destilador	C,c	F	S	F	S	F	S	F	S	F	S
T° de la muestra	D,d	20°	30°	20°	20°	30°	30°	30°	30°	20°	20°
vol del destilado	E,e	85	97	85	97	85	97	97	85	97	85
tiempo de destilado	F,f	75mtos	85mtos	75	85	85	75	75	85	85	75
Recepción de muestra	G,g	Inmediat	24H	I	24H	24H	I	24H	I	I	24H
		s	t	u	v	w	x	Y	z		
RESULTADOS		69.6505	69,5766	69,337	69,5766	69,6135	69,8535	69.4659	69,374		

S: 0.2337 (desviación estándar del procedimiento original)

Anexo 12. Pesos de la muestra más picnómetro, pesos específicos - volumen encontrada y el porcentaje de recuperación del alcohol isopropílico para el parámetro de robustez en la muestra en el laboratorio Roker Perú S.A Lima -2018.

Muestras		Peso (pic+m) 20°	Peso esp. a 20°	% (v/v)	%Rec
1	M 1	36,02620	0,87940	69,65045	99,5006
	M 2	36,02560	0,87940	69,65045	99,5006
	M 3	36,02620	0,87940	69,65045	99,5006
2	M 1	36,03000	0,87980	69,42895	99,1842
	M 2	36,02530	0,87940	69,65045	99,5006
	M 3	36,02530	0,87940	69,65045	99,5006
3	M 1	36,03210	0,88010	69,26283	98,9469
	M 2	36,03120	0,88000	69,31820	99,0260
	M 3	36,02950	0,87980	69,42895	99,1842
4	M 1	36,02980	0,87980	69,42895	99,1842
	M 2	36,02190	0,87900	69,87195	99,8171
	M 3	36,02950	0,87980	69,42895	99,1842
5	M 1	36,02930	0,87980	69,42895	99,1842
	M 2	36,02850	0,87969	69,49170	99,2739
	M 3	36,02100	0,87890	69,92733	99,8962
6	M 1	36,02480	0,87930	69,70583	99,5798
	M 2	36,02230	0,87900	69,87195	99,8171
	M 3	36,02050	0,87880	69,98270	99,9753
7	M 1	36,02690	0,87950	69,59508	99,4215
	M 2	36,03010	0,87980	69,42895	99,1842
	M 3	36,03120	0,87990	69,37358	99,1051
8	M 1	36,03210	0,88000	69,31820	99,0260
	M 2	36,03020	0,87980	69,42895	99,1842
	M3	36,03100	0,87989	69,37900	99,1129

*volumen estimada con ayuda de la tabla de alcohol isopropílico (Guillaume y Volet), a 20°

Anexo 13. Fórmula cuali-cuantitativa del producto para cada 100 mL

MATERIA PRIMA	CANTIDAD
Gluconato de clorhexidina	2,0 g
Alcohol Isopropilico	70,0g
Agua Purificada c.s.p	100,00 mL

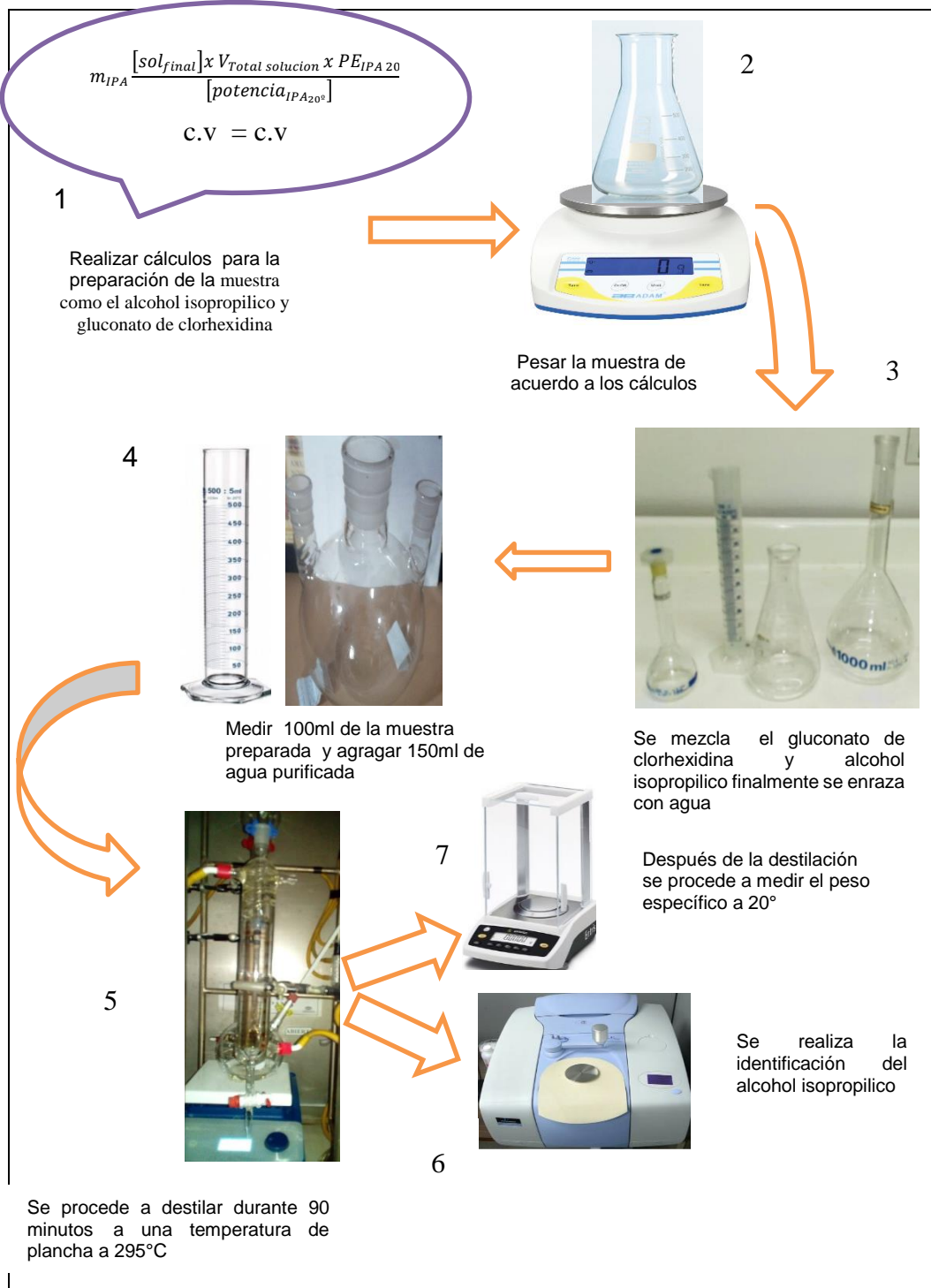
Anexo 14. Lista de materiales a usar en el proceso de validación.

Materiales	Certificado de calibración	Fecha de calibración
Matraz volumétrico de 10mL	CVU-188-2018	2018-01-14
Matraz volumétrico de 50 mL	CVU-199-2018	2018-01-29
Matraz volumétrico de 200mL	CVU – 203- 2018	2018-01-29
Matraz volumétrico de 200mL	CVU – 203- 2018	2018-01-14
Matraz volumétrico de 200mL	CVU – 203- 2018	2018-01-29
Pipeta 2mL	CVU-178-2018	2018-01-29
Probeta 100mL	CVU-191-2018	2018-01-29
Probeta 500mL	CVU-193-2018	2018-01-29
Vaso precipitado	No aplica	No aplica

Anexo 15. Resultados de la validación.

PARAMETROS DE DESEMPEÑO ANALÍTICO	CRITERIOS DE ACEPTACIÓN - DESTILACION	RESULTADOS
LINEALIDAD DE SISTEMA		
Ecuación de la recta	$y = bx + a$	
* Coeficiente de correlación: r	$r \geq 0,9950$	
* Coeficiente de determinación: r ²	$r^2 \geq 0,990$	
* Test de hipótesis para demostrar regresión en función de "r"	$t_{exp} > t_{tabla}$	
* Test de linealidad: coeficiente de variación "f"	$CV \leq 3\%$	
* Límites de confianza de la pendiente: "b"	$b \pm t_{exp} \cdot S_b$	
* Test de hipótesis de la pendiente: "b"	$t_{exp} > t_{tabla}$	
* Límites de confianza del intercepto: "a"	$a \pm t_{exp} \cdot S_a$	Debe incluir cero
* Test de hipótesis del intercepto: "a"	$t_{exp} < t_{tabla}$	
LINEALIDAD DE METODO		
Ecuación de la recta	$y = bx + a$	
* Coeficiente de correlación: r	$r \geq 0,9950$	
* Coeficiente de determinación: r ²	$r^2 \geq 0,990$	
* Test de hipótesis para demostrar regresión en función de "r"	$t_{exp} > t_{tabla}$	
* Test de linealidad: coeficiente de variación "f"	$CV \leq 3\%$	
* Límites de confianza de la pendiente: "b"	$b \pm t_{exp} \cdot S_b$	
* Test de hipótesis de la pendiente: "b"	$t_{exp} > t_{tabla}$	
* Límites de confianza del intercepto: "a"	$a \pm t_{exp} \cdot S_a$	Debe incluir cero
* Test de hipótesis del intercepto: "a"	$t_{exp} < t_{tabla}$	
PRECISION		
* Coeficiente de variación de la Repetibilidad	$CV \leq 3\%$	
Intervalos de confianza	95% confianza	
* Coeficiente de variación de la precisión Intermedia.	$CV \leq 3\%$	
Test de Fisher	$F_{exp} < F_{tabla}$	
Límites de confianza	95% confianza	
Porcentaje de recuperación	90% – 110%	
EXACTITUD		
* Porcentaje de Recuperación	80% - 120 %	
* Coeficiente de variación	$CV \leq 3\%$	
* Test de Cochran: Igualdad de varianzas	$G_{exp} < G_{tabla}$	
* Test de t de Student: diferencia de la media	$t_{exp} < t_{tabla}$	
* Coeficiente de correlación: r	0,990	
SELECTIVIDAD		
Respuesta del análisis más placebo	Hay respuesta	
Respuesta del placebo	No hay respuesta	
Respuesta del solvente o diluyente	No hay respuesta	
Muestra hidrólisis alcalina	Hay respuesta	
muestra hidrólisis ácida	Hay respuesta	
* muestra Oxidación	Hay respuesta	
* muestra Termólisis	Hay respuesta	
ROBUSTEZ		
* Diseño factorial de Youden y Steiner	Efecto $< \sqrt{2} \cdot S$:	

Anexo 16. Flujograma de la preparación de la muestras hasta la obtención de la solución destilada.



Anexo 17. Recepción de la muestra después de la destilación en el laboratorio
Roker Peru S.A Lima - Peru



Anexo 18. Equipo de destilador fraccionado



Anexo 19. Certificado de calibración del picnómetro del laboratorio Roker Peru S.A

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN Página 1 de 1

N° CVU-009-2018
 Fecha de emisión: 2018-02-16
 Expediente: 1946-2018

UNIDAD BAJO PRUEBA: PICNÓMETRO
 Marca: ISOLAB
 Modelo: No Indica
 Serie: 119
 Material: Boro 3,3
 Identificación: P-10-02 (*)
 Ubicación: No Indica

Capacidad Nominal: 10,136 ml
 División de escala: No Aplica
 Temp. de Referencia: 20 °C
 Tipo: Ground-in Thermometer
 Procedencia: Alemania

SOLICITANTE: LABORATORIO ROKER PERU S.A.
 Dirección: Cal. La Milla Nro. 220 Urb. La Milla - San Martín de Porres - Lima - Lima

DE LA CALIBRACIÓN: Fecha: 2018-02-15
 Lugar: Laboratorio de Calibración de UNIMETRO S.A.C
 Método: Según el PC-015 "Procedimiento para la Calibración de Material Volumétrico de Vidrio", 5ta. Edición. 2017, INACAL-DM.

RESULTADO DE LAS MEDICIONES:

Volumen Nominal (mL)(***)	Volumen Contenido (mL)	Desviación (mL)	Incertidumbre (± mL)	Error Máximo Permissible (**) (± mL)
10,136	10,1416	0,0056	0,0025	1

La incertidumbre de la medición que se presenta esta basada en una incertidumbre estándar multiplicado por un factor de cobertura k=2, el cual proporciona un nivel de confianza de aproximadamente 95 %.

CONDICIONES AMBIENTALES:

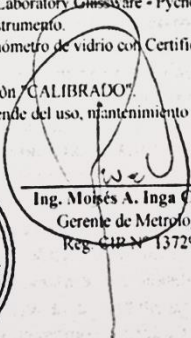
	Inicial	Final
Temperatura (°C)	20,5	20,8
Humedad Relativa (%HR)	56,0	59,0


PATRONES DE REFERENCIA:

Trazabilidad	Patrón utilizado	Certificado de Calibración
Patrones de referencia del INACAL -DM	Balanza - Clase I Alcance: 220 g x 0,0001 g	CMU-016-2018 - UNIMETRO S.A.C.
Patrones de referencia del INACAL-DM	Termómetro patrón de 0,01 °C de resolución	LT-027-2018 INACAL-DM

OBSERVACIONES:

- (*) Identificación asignada por LABORATORIOS ROKER PERU S.A., grabada en una etiqueta adherida a la caja del instrumento
- (**) Según norma ISO 3507 - 1999 "Laboratory Glassware - Pycnometers"
- (***) Valor nominal grabado en el instrumento.
- El instrumento forma parte de un picnómetro de vidrio con Certificado de Calibración N° CTU-342-2018 emitido por UNIMETRO S.A.C.
- Se colocó una etiqueta con la indicación "CALIBRADO".
- La periodicidad de la calibración depende del uso, mantenimiento y conservación del instrumento.


 Ing. Moisés A. Inga Chucos
 Gerente de Metrología
 Reg. CIP N° 137294



Anexo 20. Certificado de calibración del termómetro de líquido en vidrio del laboratorio Roker Peru S.A

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN Página 1 de 1

N° CTU-342-2018
 Fecha de emisión: 2018-02-16
 Expediente: 1946-2018

UNIDAD BAJO PRUEBA: **TERMÓMETRO DE LIQUIDO EN VIDRIO**
 Marca: ISOLAB
 Modelo: No Indica
 Serie: 119
 Identificación: P-10-02
 Ubicación: No Indica

Rango de indicación: 10 °C a 40 °C
 División mínima: 0,5 °C
 Procedencia: Alemania
 Líquido: Mercurio

SOLICITANTE: LABORATORIO ROKER PERU S.A.
 Dirección: Cal. La Milla Nro. 220 Urb. La Milla - San Martin de Porres - Lima - Lima.

DE LA CALIBRACIÓN: Fecha: 2018-02-15
 Lugar: Laboratorio de Temperatura de UNIMETRO S.A.C.
 Método: La calibración se efectuó mediante el método de comparación directa Tomando como referencia la PC-017 "Procedimiento para la calibración de termómetros digitales", 1ra. Edición, Diciembre 2012, SNM-INDECOPI.

RESULTADO DE LAS MEDICIONES:

INDICACIÓN TERMÓMETRO (°C)	CORRECCIÓN (°C)	TCV (°C)	INCERTIDUMBRE (°C)
20,0	-0,2	19,8	0,3

Temperatura Convencionalmente Verdadera (TCV) = Indicación del termómetro + Corrección
 La incertidumbre de la medición que se presenta esta basada en una incertidumbre estándar multiplicado por un factor de cobertura k=2, el cual proporciona un nivel de confianza de aproximadamente 95 %.

CONDICIONES AMBIENTALES:


	Inicial	Final
Temperatura (°C)	20,8	20,6
Humedad Relativa (%HR)	58,0	60,0
Tiempo de Estabilización	30 min.	

PATRONES DE REFERENCIA:

Trazabilidad	Patrón utilizado	Certificado de Calibración
Patrones de referencia del INACAL - DM	Termómetro patrón de 0,01 °C de resolución	LT-026-2018 INACAL-DM
Patrones de referencia del INACAL - DM	Termómetro patrón de 0,01 °C de resolución	LT-027-2018 INACAL-DM

OBSERVACIONES:

- El instrumento forma parte de un pícnometro de vidrio con Certificado de Calibración N° CVU-009-2018 emitido por UNIMETRO S.A.C.
- (*) Identificación asignada por LABORATORIO ROKER PERU S.A., grabada en una etiqueta adherida a la caja del instrumento.
- Se colocó una etiqueta con la indicación "CALIBRADO"
- La periodicidad de la calibración depende del uso, mantenimiento y conservación del instrumento.



 Ing. Moisés A. Inga Chucos
 Gerente de Metrología
 R.M. CIP N° 137294

PROHIBIDA SU REPRODUCCION PARCIAL O TOTAL DE ESTE DOCUMENTO SIN AUTORIZACION ESCRITA DE UNIMETRO

Anexo 21: Matriz de consistencia.

TÍTULO: Validación del método analítico por destilación fraccionada para la cuantificación de alcohol isopropílico en soluciones con gluconato de clorhexidina Lima 2018.

PERSONAL INVESTIGADOR: CANALES QUISPE, Erica

titulo	Problema	objetivos	Marco teórico	Hipótesis	Variables e indicadores	Metodología
Validación del método analítico por destilación fraccionada para la cuantificación de alcohol isopropílico en soluciones con gluconato de clorhexidina Lima 2018.	¿En qué medida cumplirá el método analítico desarrollado por destilación fraccionada para la cuantificación de Alcohol Isopropílico en soluciones con Gluconato de Clorhexidina si cumplirá con los parámetros de desempeño establecidos para una validación?	<p>Objetivo general. Validar el método analítico destilación fraccionada para la cuantificación de Alcohol Isopropílico en soluciones con Gluconato de Clorhexidina.</p> <p>Objetivos específicos.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Desarrollar los parámetros de validación del método analítico, cumpliendo las exigencias de la validación como: linealidad (linealidad de sistema y linealidad de método), exactitud, precisión (precisión intermedia, repetibilidad y reproducibilidad), selectividad y robustez, con la confiabilidad y seguridad, para la cuantificación analítica del alcohol isopropílico en soluciones con Gluconato de Clorhexidina. 2. Determinar la pureza del alcohol isopropílico del destilado en los parámetros de linealidad de sistema, linealidad de método, selectividad 	- Antecedentes -Validación -parámetros de validación -alcohol Isopropílico -fundamento de destilación fraccionada Fundamento del Infrarrojo	<p>H₀: La validación del método analítico por destilación fraccionada para la Cuantificación del alcohol isopropílico cumple con todas las exigencias y con todos los parámetros de validación</p> <p>H_a: La validación del método analítico por destilación fraccionada para la Cuantificación del alcohol isopropílico no cumple con todas las exigencias y con todos los parámetros de validación</p>	<p>Variable de interés: Validación del método analítico por destilación fraccionada para la cuantificación del Alcohol Isopropílico en soluciones de Gluconato de Clorhexidina.</p> <p>Indicadores</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Validación del método analítica. <p>Parámetros de validación:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.Exactitud 2.Precisión 3.selectividad 4.Linealidad 5.Robustez <ol style="list-style-type: none"> 2.. Concentración de :80%,90%,100%,110%,120% 3.Destilación fraccionada y IR 	<p>Tipo de investigación descriptivo</p> <p>Población: Todos los métodos analíticos por destilación fraccionada del laboratorio Roker Peru S.A</p> <p>Muestra: Método analítico por destilación fraccionada para la cuantificación del alcohol Isopropílico en soluciones con Gluconato de Clorhexidina</p> <p>Material químico Constituido por 102 muestras de frascos de 100 mL elaborados de alcohol isopropílico en una solución con Gluconato de Clorhexidina</p> <p>Método: Método analítico propio cumpliendo con los parámetros de la Farmacopea USP 40 a realizar.</p> <p>Análisis estadístico: se aplicara de acuerdo a los parámetro de validación: t de student, Fisher, test de cochran Diseño factorial de Youden y Steiner</p>

