

TALLER VALIDACIÓN DE UN MÉTODO ANALITICO

Nombres: _____

Objetivo:

Desarrollar las habilidades necesarias para realizar la validación de un método analítico.

Metodología:

Conformar grupos de 3 a 5 personas

Leer completamente el instructivo de ensayo suministrado y determine:

1. La clasificación del método según los lineamientos de la USP
2. realice los cálculos de Linealidad, Precisión, exactitud y sensibilidad para el método entregado. Si requiere información adicional justifique la causa y supóngala
3. Utilice para la realización de los calculo las formulas entregadas

Tiempo estimado:

60 minutos para la realización del taller

30 minutos para la socialización

Descripción:

El analista de laboratorio Marmita Bureta, es la responsable de diseñar la validación del método analítico siguiente, para lo cual solo cuenta con el instructivo de análisis, la ayuda de sus compañeros y vasta experiencia en el tema.

Instructivo de ensayo para:
DETERMINACIÓN DE VITAMINA D3

1. OBJETIVO

Describir los pasos a seguir para determinar el contenido de vitamina D₃ en comprimido no recubierto que contiene vitamina D3

2. ALCANCE

Este instructivo aplica a muestras sólida en tabletas ó capsulas.

3. RESPONSABLE

Analista de laboratorio
Jefe de laboratorio

4. PRECAUCIONES

Utilizar guantes y aplicar los procedimientos de seguridad definidos en el laboratorio

5. BASE DEL MÉTODO

Valoración de la vitamina D₃, utilizando para la separación la cromatografía líquida - fase normal, lectura posterior a UV

6. EQUIPOS Y MATERIALES

Cromatógrafo líquido, Columna, Ultrasonido, Balanza, Balones volumétricos y Pipetas volumétricas.

7. DESCRIPCIÓN

PREPARACIÓN DEL ESTÁNDAR

Pesar una cantidad de estándar de vitamina D3 equivalente a 7734 UI en un beaker de 100 mL, agregar 10 mL de Dimetisulfoxido, mezclar por agitación durante 5 minutos y con calentamiento suave.

Adicionar 15 mL de N-Hexano, tapar para evitar la perdida de hexano. Colocar en plancha de calentamiento a 50°C y con agitación por 10 minutos

Después de este tiempo llevar la muestra a un baño de hielo.

Pasar el sobrenadante (hexano) a un balón volumétrico de 50 mL.

Realizar las extracciones con hexano 2 veces más con porciones de 15 mL cada vez.

Juntar todos los extractos hexánicos en el balón de 50 mL .

Llevar a volumen con hexano y mezclar.

Tomar 1mL de la solución anterior y llevarla a un balón volumétrico de 10mL. Llevar a volumen con hexano y mezclar.

Llevar la solución anterior a un tubo de ensayo que contiene 0.5 g de sulfato de sodio anhidro. Agitar fuertemente y luego centrifugar.

Filtrar el sobrenadante por filtro de 0.2 um

7.2 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Pesar el contenido de 10 capsulas o comprimidos y macerarlos.

Pesar 6 gramos del pulverizado en un beaker de 100 mL .

Realizar el mismo tratamiento que al estándar.

Recoger los extractos hexánicos en un balón volumétrico de 50 mL.

Llevar a volumen con hexano y mezclar.

Llevar 10 ml de la solución anterior a un tubo de ensayo que contiene 0.5 g de sulfato de sodio anhidro. Agitar fuertemente y luego centrifugar.

Filtrar el sobrenadante por filtro de 0.2 um

Adecuación del equipo cromatógrafo líquido para fase normal

Pasar por el canal C y D desconectado previamente la columna los siguientes solventes y a las siguientes condiciones:

Solvente	Tiempo	Flujo
Agua	10 Min.	1,0 ml/min
Metanol	10 Min.	1,0 ml/min
Isopropanol	15 Min.	1,0 ml/min

Conectar la columna y pasarle metanol a flujo de 1,0ml/min por 10 minutos; luego, isopropanol a flujo de 1,0 ml/min por 10 minutos.

Buscar el método VITAMD3.M y encender la bomba y la lámpara y dejar estabilizando la columna durante 15 a 20 minutos; al inyectar colocar en el primer vial isopropanol y cuando termine las corridas lavar con isopropanol con el método LAVNH2.M. Si no se va a trabajar más con fase normal pasar isopropanol por el

canal D que contenía hexano; luego, pasar metanol por el C y el D. Dejar la columna con metanol.

CÁLCULOS

$$C = \frac{A_m \times C_{st}}{A_{st} \times W_m} \times F \times P \times R$$

Donde:

C: UI de Vitamina D₃ en la cantidad rotulada

A_m: Área de la muestra

A_{st}: Área del estándar

W_m: Peso o volumen de muestra

C_{st}: Concentración del estándar

P : Potencia estándar (UI/g)

F: Factor de dilución de la muestra

R: Cantidad rotulada

$$\% \text{Vitamina D}_3 = \frac{C}{D} \times 100$$

Donde:

C: Unidades Internacionales de vitamina D₃ en la cantidad rotulada.

D: UI vitamina D₃ teórico por la cantidad rotulada.

ANEXOS

NO APLICA