

CALIBRACION DE EQUIPOS DE LABORATORIO BASADA EN NORMAS OFICIALES

* PACHECO M. GARCIA P MONTES H.

* Departamento de Calibración y Control de Instrumentos
Departamento de Desarrollo Analítico.

CENTRO A.F. DE ESTUDIOS TECNOLOGICOS S.A.

RESUMEN

En el presente trabajo se exponen y discuten las variables a controlar de los espectrofotómetros UV-visible, medidores de pH, balanzas analíticas y disolutores; cubriendo en cada caso las pruebas de verificación y calibración que se encontraron de mayor utilidad.

INTRODUCCION:

Una de las principales herramientas de trabajo en un laboratorio son los equipos de precisión mediante los cuales se obtienen los datos y resultados de diversos analisis; para que estos resultados sean reproducibles y exactos, es necesario que el equipo sea verificado y calibrado para comprobar que se encuentra en condiciones óptimas y confiables de operación.

Mediante la verificación y calibración de los equipos los errores que estos pudieran ocasionar son detectados y corregidos, si es posible a los límites permisibles establecidos en las normas oficiales o internacionales.

EQUIPOS:

Espectrofotómetro Beckman DU-37 Ultravioleta-visible.
Espectrofotómetro Varian Techtron 635 Ultravioleta-visible.
Medidor de pH Beckman 045.
Balanza analítica Mettler AE260.
Balanza analítica Sauter 413.
Equipo de Disolución Hanson Research Modelo 72R.

MATERIALES Y REACTIVOS:

Nivel de burbuja, indicador de cuadrantes, vibrómetro, disco de plástico para centro, termopares, indicador de altura, escuadra universal, cronómetro digital, celda de óxido de holmio, celda de cuarzo de 1cm, filtros NBS SRM 2031.

Comprimidos USP de ácido salicílico no desintegrante de 300mg, comprimidos USP de prednisona de 50mg, dicromato de potasio NBS SRM 935, ácido perclórico al 70% grado suprapar, yoduro de potasio grado ACC, 150 sulfato de cobre grado reactivo, benceno grado espectrofotométrico, fosfato monobásico de potasio RA, ftalato ácido de potasio NBS, fosfato ácido de potasio NBS, fosfato monobásico de potasio NBS, carbonato ácido de sodio y bicarbonato de sodio NBS.

DESARROLLO:**Espectrofotómetros:****1. Calibración del sistema óptico de espectrofotómetro UV-visible**

Exactitud de la longitud de onda:

Se basa en la obtención de un espectro de algún material de referencia cuyas bandas de absorción están bien definidas, apareciendo a longitudes de onda conocidas en las regiones del visible y el ultravioleta. Basándose en normas de la ASTM, los materiales de referencia que se pueden utilizar son:

- Vapor de benceno (300nm- 230nm)
- Arco de mercurio de baja presión (600nm - 200nm)
- Arco de deuterio o hidrógeno (600nm - 480nm)
- Celda de óxido de holmio (670nm - 300nm)
- Filtro de vidrio de didimio (700nm - 400nm)

Esta verificación se lleva a cabo cada 2 meses (pero basándonos en los resultados esto puede modificarse).

El material utilizado fue una celda de vidrio de óxido de holmio para la región visible y una porción del ultravioleta, y para el resto del ultravioleta, una celda de cuarzo saturado con vapor de benceno y sellada. Para estas celdas se obtiene el espectro correspondiente y se compara con el presentado por las normas.

2. Exactitud de repetibilidad de la escala de absorbancia.

Se basa en la utilización de materiales y reactivos de referencias certificados por la NIST (NBS) según la siguiente tabla:

Región	Escala	Material o reactivo utilizado
Visible	Transmitancia	Filtros certificados NBS SRM 2031
Ultravioleta	Absorbancia	Dicromato de potasio NBS SRM 935

REPORTE DE CALIBRACION
ESCALA DE ABSORBENCIA

EQUIPO: ESPECTROFOTOMETRO BSA MAN DU-37

TEMPERATURA: 25-28 C

MATERIAL DE

CALIBRACION: SOLUCIONES DE DICROMATO DE POTASIO/NBS

ANALISTA: D. MONTES

FECHA: 06.09.89

LONGITUD DE ONDA	CONC. mg/lit	x CALCULADA	x OBTENIDA	PRECISION (desv. std)	EXACTITUD x CALCULADA x OBTENIDA
235	40	0.492	0.512	0.0020	-0.020
	50	0.616	0.631	0.0008	-0.015
	60	0.741	0.771	0.0018	-0.030
	70	0.866	0.879	0.0014	-0.013
257	40	0.573	0.589	0.0014	-0.016
	50	0.717	0.729	0.0008	-0.012
	60	0.858	0.891	0.0016	-0.033
	70	1.008	1.016	0.0008	-0.008
313	40	0.192	0.198	0.0005	-0.006
	50	0.241	0.245	0.0009	-0.004
	60	0.289	0.299	0.0008	-0.010
	70	0.337	0.342	0.0010	-0.005
345	20	0.212	0.215	0.0000	-0.003
	40	0.425	0.433	0.0012	-0.008
	50	0.531	0.534	0.0010	-0.003
	60	0.637	0.653	0.0024	-0.016
	70	0.749	0.744	0.0016	0.005
350	20	0.214	0.216	0.0008	-0.002
	40	0.433	0.437	0.0021	-0.004
	50	0.536	0.539	0.0007	-0.003
	60	0.643	0.650	0.0019	-0.017
	70	0.754	0.753	0.0010	-0.001

OBSERVACIONES:

Para la región ultravioleta las normas establecen lecturas a las siguientes longitudes de onda: 235, 257, 313, 345 y 350 a las cuales sus absorbancias se encuentran certificadas y puede así comprobarse que el equipo proporciona lecturas reales.

Para la región visible se utilizan una serie de filtros certificados por la NES que presentan transmitancias certificadas de 90%, 30% y 10%.

Frecuencia de calibración: Cada dos meses.

3. Verificación de las celdas de absorción:

Se basa en la determinación de la absorción de la celda teniendo como muestra agua destilada y como referencia el aire; si la celda se encuentra muy sucia o presenta rayaduras las lecturas se verán muy alteradas.

Para celdas de cuarzo, las cuales se utilizan en la región ultravioleta la lectura se hace a 240nm y para las celdas de vidrio que se utilizan en la región visible la lectura se realiza a 650nm y como límites se tiene que la absorbancia no debe ser mayor de 0.093 para celdas de cuarzo de 1cm y 0.035 para celdas de vidrio de 1cm (Norma ASTM).

Las celdas deben verificarse cada mes pues su excesivo uso puede dañarlas o presentar rayaduras que afecten la lectura.

4. Desviación de la región radiante:

Se basa en la medición de absorbancia de soluciones opacas que sirven como filtros en determinadas longitudes de onda. Este parámetro nos indica la cantidad de luz de otras longitudes de onda diferente a la deseada que está pasando a través del monocromador.

Se Utilizan las Siguyentes Soluciones:

REACTIVO	ABS	LAMI	ARA	/	USO
Yoduro de potasio	0.00	UV		220	Calibración
Yoduro de potasio	1-3	UV		220	Desviación total del haz
Dicromato de potasio 0.00		VIS		370	Calibración
Dicromato de potasio 1-3		VIS		370	Desviación total del haz
Sulfato de cobre	0.00	VIS		680	Calibración
Sulfato de cobre	1-3	VIS		680	Desviación total del haz

La solución cuya concentración es para la calibración se utiliza

CALIBRACION DE LONGITUD DE ONDA

INSTRUMENTO: VARIAN TECHRAN 605 CONDICIONES: VAPORES DE BENCENO
 FECHA: 26. JULIO. 1989
 TEMPERATURA: 27 C EN EL COMPARTIMIENTO
 ANALISTA: D. MONTES

LONGITUD DE ONDA ANALIZADA (nm)	INTERVALO (nm)	LONGITUD DE ONDA OBSERVADA (nm)			PROMEDIO
236.3	237.3-235.3	236.31 236.31	236.31 236.31	236.3 236.3	236.3
241.6	242.6-240.6	241.61 241.61	241.61 241.61	241.6 241.6	241.6
247.1	248.1-246.1	247.21 247.21	247.21 247.21	247.2 247.2	247.2
248.0	249.0-247.0	248.21 248.21	248.21 248.21	248.2 248.2	248.2
252.8	253.8-251.8	252.81 253.01	253.01 253.01	253.0 253.0	252.97
253.9	254.9-252.9	254.11 253.91	254.11 253.91	253.9 253.9	253.96
258.9	259.9-257.9	259.11 259.11	259.11 259.11	258.9 258.9	259.03
259.9	260.9-261.9	260.11 260.11	260.11 260.11	259.9 259.9	260.03

OBSERVACIONES:

para establecer el cero de absorbancia en el equipo y posteriormente se utiliza la solución para determinar el porcentaje de energía radiante no deseada, obteniendo la lectura de absorbancia. Si la lectura de absorbancia es mayor de 2.00 corresponde a una desviación de la energía radiante de 0.2% el cual puede considerarse como límite; aunque este límite se ve generalmente establecido por el fabricante.

Esta prueba puede realizarse cada 6 meses dependiendo de la frecuencia de uso.

Medidores de pH.

1. Verificación de los Electrodo:

Independientemente del tapón de electrodo que se utilice se debe verificar que la membrana del electrodo se encuentre en buen estado, limpia y sin rayadura; que el nivel de la solución de relleno (si es que utiliza) se encuentre en el nivel adecuado, en caso contrario se debe proceder a limpiar el electrodo según lo especificado por el fabricante y rellenar con la solución adecuada fresca.

2. Calibración:

Se determina la exactitud, repetibilidad, linealidad y tiempo de respuesta.

Se realiza con soluciones reguladoras preparadas con sales certificadas de la NBS.

Se produce a tomar una serie de lecturas de las soluciones reguladoras de pH=7.00, pH=4.00 y pH=10.00 para así determinar la exactitud y repetibilidad.

La linealidad se determina mediante una gráfica de valor de pH contra lectura en milivolts.

La calibración con soluciones certificadas NBS debe realizarse cada dos meses, pero cada mes se realizará con soluciones reguladoras secundarias y fuente de voltaje certificada.

Balanzas analíticas mecánicas.

Verificación mecánica del equipo (Norma USP).

1. Verificación Física:

Debe mantenerse el buen estado y limpieza del sistema de pesado: cruz, cuchillas, cojinetes, canastillas.

La escala óptica y el cero óptico deben encontrarse bien enfocados, esto se ajusta mediante el tornillo de cero óptico y el movimiento de los lentes.

La cámara de pesado debe estar completamente limpia y el platillo sin residuos de ninguna especie.

2. Calibración:

Consiste en determinar la exactitud de la escala de lectura directa y de la pesa menor del grupo de pesas internas, es decir

la sensibilidad de la escala media superior e inferior; las pruebas de fidelidad que permite evaluar la repetibilidad y la movilidad. En la determinación de la exactitud se utilizan pesas calibradas y se determina el valor que presentan en el momento en que se coloca a los 30 segundos y al minuto, con los datos aquí obtenidos puede determinarse el índice de fidelidad o repetibilidad mediante la desviación estandar haciendo una serie de 6 lecturas.

La movilidad es la característica que nos indica las pequeñas variaciones a las que puede responder la balanza. Esto se realiza colocando pesas de valores menores a la división mínima de la balanza y determinar cual es la que provoca un movimiento del indicador del equipo, el valor de la movilidad debe ser igual o menor a la división mínima.

La sensibilidad consiste en comprobar el valor de la pesa interna mas pequeña con una pesa calibrada, las marcas de pesas con las cuales se realizaron las pruebas fue en marco de pesas TROEMNER certificado por la NBS cuyas pesas nominales van de 1mg-100g y un marco de pesas COBOS cuyo intervalo es de 20mg.-200g.

Disolutores:

I. Verificación mecánica del equipo (Norma USP).

1) Verificación de la base.

Se utiliza el nivel de burbuja para comprobar la nivelación con respecto al plano horizontal al frente, a los lados y en el cabezal del equipo, comprobando cada vez la posición de la burbuja entre las marcas.

2) Verificación de la rectitud de flechas y paletas.

Se utilizan dos bloques en "V" firmemente montados sobre una base y los indicadores de cuadrantes.

Las lecturas de estos deben marcar una desviación máxima de 0.1mm de rectitud.

3) Verificación de canastillas.

Se lleva a cabo junto con su flecha respectiva. La canastilla se une a la flecha y se mantiene firme mediante los "clips" de ésta. La lectura debe marcar, durante y después de rotarla, 0.25mm máximo.

4) Verificación de equidistancia de las paletas.

Las aspas de las paletas deben de ser equidistantes del eje de rotación y la lectura del indicador de cuadrantes no exceder la lectura máxima de 1mm de desviación de la equidistancia.

5) Verificación de la perpendicularidad de los ejes.

La perpendicularidad de los ejes se asegura geométricamente mediante una escuadra acoplada con un transportador.

La desviación permitida es de 2° en la perpendicularidad.

6) Verificación de la altura correcta del eje de agitación.

La medición de la altura se lleva a cabo con un indicador de acero inoxidable de 17cm. que posee la media de la altura especificada que es de 2.5cm.

7) Verificación del eje con respecto al vaso.

El centro se determina mediante un disco que posee un diámetro igual al diámetro interno del vaso. (98-106mm.). Este disco tiene un orificio exactamente en el centro por donde pasa la flecha del sistema de agitación.

El sistema de agitación debe quedar en el centro del vaso de disolución $\pm 1\text{mm}$.

8) Verificación de la oscilación de las paletas o canastillas (bamboleo).

Se mide la oscilación del sistema de agitación mediante un indicador, el cual medirá cuanto se mueve con respecto al centro del eje. El control de velocidad no debe exceder más de 25rpm y la oscilación no debe ser mayor de $\pm 1-2\text{mm}$.

9) Verificación del control de velocidad.

Por medio de un cronómetro se verifica que el equipo sea capaz de reproducir las rpm que se le establecen en el eje de agitación. La variación en las rpm no debe ser mayor de $\pm 4\%$.

10) Verificación del control de temperatura.

Se lleva a cabo mediante el uso de termopares, registrando las temperaturas del baño maria y de cada uno de los vasos.

La temperatura debe permanecer en $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5$.

11) Verificación de la vibración.

Se determinan los niveles de vibración a los cuales está expuesto el equipo de disolución con vibrómetro. Los niveles deben ser menores de 0.1mm/s.

CONCLUSIONES.

Mediante las pruebas realizadas a los diferentes equipos se puede conocer su estado de funcionamiento, de acuerdo a las especificaciones, y estimar en un momento dado la influencia ejercida por otras variables sobre los resultados. Estas variables que no se encuentran en el límite especificado y no pudieron ser corregidas en algunos análisis, pudieran no ser significativos y para otros casos no ofrecerán una garantía sobre la confiabilidad de los resultados.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- United States Pharmacopeia, XXI, 1985
- 2.- British Pharmacopeia, 1989
- 3.- William A. Hanson, Handbook of Disolution Testing
Pharmaceutical Technology Publication, 1982
- 4.- World Health Organization International Pharmacopoeia, 3ed.
edition
- 5.- World Health Organization, Good Laboratories Practices in
Governmental Drug Control Laboratories, 1988.
- 6.- Food and Drug Administration. Guidelines for Disolution
testing.
- 7.- W.A. Hanson, Disolution test studios - Operating Manual
Model 72 Hanson Research Corporation.
- 8.- W.A. Hanson, Soft Flow Manual, Hanson Research Corporation.
- 9.- Beckman, Beckman models 24, 25, 26 Spectrophotometers,
Beckman, Scientific Instrument Division, 1975.
- 10.- Beckman, DU 37 Disolution Testing Sistem - Operating
Instructions, Beckman, Scientific Instrument Division.
- 11.- Annual Book of ASTM Standards, General Methods and Instruments,
Section 14, Vol. 14.01, 1988.
 - a) ASTM E 169-87
Standard Practice for general technique of ultraviolet -
visible quantitative analysis.
 - b) ASTM E 275-83
standard Practice for describing and measuring performance of
ultraviolet visible and near infrared spectrophotometer.
 - c) ASTM E 387-84
Standard test method of estimating stray radian power ratio
of spectrophotometer by opaque filter method.
 - d) ASTM E 925-83
Standard practice for the periodic calibration of a narrow
band - pass spectrophotometers.
 - e) ASTM E 958-83
Standard practice for measuring practical spectral bandwidth
of ultraviolet - visible spectrophotometers.