

Farmacopea Argentina

VOLUMEN IV



**FARMACOPEA
ARGENTINA**

SÉPTIMA EDICIÓN



Farmacopea Argentina

VOLUMEN
IV

FARMACOPEA ARGENTINA

SÉPTIMA EDICIÓN



Ministerio de Salud de la Nación

Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos

ANMAT

Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

INAME

Instituto Nacional de Medicamentos

FARMACOPEA ARGENTINA

SÉPTIMA EDICIÓN

Presidente de la Nación

Dra. Cristina Fernández de Kirchner

Jefe de Gabinete de Ministros

Dr. Juan Manuel Abal Medina

Ministro de Salud de la Nación

Dr. Juan Luís Manzur

Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos

Dr. Gabriel Eduardo Yedlin

Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

Dr. Carlos A. Chiale

Instituto Nacional de Medicamentos

Farm. Rodolfo H. Mocchetto

**FARMACOPEA
ARGENTINA**

SÉPTIMA EDICIÓN

VOLUMEN
IV

COMISIÓN PERMANENTE
FARMACOPEA ARGENTINA

Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina

PRESIDENTE: Dr. Carlos A. Chiale

DIRECTOR EJECUTIVO: Bioq. y Farm. Héctor Giuliani

SECRETARÍA TÉCNICA:

Farm. Melina I. Assalone

Farm. Melina A. Dal Mas

Farm. María Celeste De Angelis

VOCALES:

Dr. Sem M. Albónico

Dr. Daniel Allemandi

Dr. Arnaldo Luis Bandoni

Dr. Pablo Bazerque

Dra. Clyde Carducci

Dr. Mario A. Copello (†)

Dr. Miguel D' Aquino

Dr. Juan M. Dellacha

Dra. Graciela Ferraro

Dr. Teodoro S. Kaufman

Dra. Marcela Longhi

Dr. Eloy Mandrile (†)

Dr. Rubén Manzo

Dra. Eugenia Olivera

Dra. Cristina Ortiz

Dra. María Teresa Pizzorno

Dr. Edgardo Poskus

Dra. Maria Praturlon

Dr. Modesto Rubio

Dr. Norberto A. Terragno

Dra. María Guillermina Volonté

COMPOSICIÓN DE LAS SUBCOMISIONES TÉCNICAS DE LA FARMACOPEA ARGENTINA

Aguas y Soluciones Parenterales de Gran Volumen

Achilli, Estela; Bichman, Mario; Colombari, Daniel; Cravzov Alicia; Duda, Guillermo; Fiore, Esteban; Menéndez Viviana; Neder, Jorge; Nista, Liliana; Petracca, Antonia; Ploder, Peter; Silveti, Omar Alfredo; Szyszkowsky, Juiz Rubén; Vedoya, Gabriela Silvia.

Biodisponibilidad, Bioequivalencia y Equivalencia Farmacéutica

Bignone, Inés; Bolaños, Ricardo; Bramuglia, Guillermo; Abalos, Ivana; Debattista, Gabriela; De Leone, Héctor (†); Giarcovich, Silvia; Granero, Gladys; Niselman, Ada Viviana; Pano, Viviana; Pesce, Graciela; Pesce, Guido; Peretti Mariana; Rey, Andrea; Romañuk Carolina; Seoane, Martín; Sperandeo, Norma; Steeman, Gabriela; Torres, Adriana; Viñas, María Alicia.

Colorantes, Excipientes y Aditivos

Brunet, Noemí; Bustos, Mónica; Ciura, Juan M. Emilio; Corseti, Héctor; Dabbene, Viviana; Dobrecky, José; Ferrari, Jorge; Jacobi, Carlos; Rivas, Viviana; Rubio García, Rodolfo; Taschetti, Mabel; Trokán, Francisco; Vallese, María Cristina.

Controles Toxicológicos

Araldi, Héctor (†); Bindstein, Edith; Bulgach, Delia; Cereceto Marina, Fulginiti, Ana Susana; Gruñeiro, Elena; López, Clara; Pazos, Liliana; Pico, José Carlos; Quiroga, Pablo; Rodriguez Carolina, Rodriguez Yanina; Roses, Otmaro; Salseduc, Marta; Santiesteban, Raquel.

Estabilidad y Envases

Ariosti, Alejandro; Blanco, Mirta; Briñon, Margarita; Gorisknik, Adriana; Gruc, Olga; Alejandra; Mandrile, Alejandra; Nudelman, Norma; Pico, Guillermo; Pilatti, Carina; Riera, Mónica; Spinetto, Marta; Sandrone, Ariel; Sánchez, Eduardo; Tamasi, Diego.

Farmacia Hospitalaria

Bernal Castro, Federico; Bernavei, Alicia; Buontempo, Fabian; Elías, Mónica; Fernandez, María Cristina; Drunday, Fabian; Fernández, Fillinger, Ester, María Laura; García, Angélica;

Hermida, Miguel; Iglesias, Fabiana; Lagomarsino, Eduardo; Mato, Gabriel; Melero, Marcia; Menéndez, Ana María; Montemerlo, Hugo; Pita Martin de Portela, María Luz; Raviolo, Rodolfo; Rodríguez, Luis A.; Slobodianik de Gurevich, Haydeé; Soifer, Graciela.

Farmacia Oficial

Alvárez, Jorgelina; Andiñach, Guido; Callegari, Fernando; Ferrero, Horacio; Fitanovich, Nora; Fridman, Gerardo; Garcia, Roberto; Gatica, Karina; Gomez, Juan; Gonzalez, Ana María; Julián, Silvia; Kleinlein, Patricia; López de Souza, María del Carmen; Lopez, Guillermo; Maino, Héctor; Mollardo, María Teresa; Mendez, Raquel; Moreno, Patricia; Nadal, Ana María; Paura, Andrea; Perez González, Rocio; Policelli, Gabriela; Quijano, Rubén Darío; Quiroga, Eduardo; Rencoret, María Mercedes; Ruggieri, José; Salas, Vivian; Tokumoto, Fernanda; Torres, Hugo; Uema, Sonia; Valverde, Javier.

Gases Medicinales

Arcos, Marcelo; Bernaus, Carlos; Cordera, Mónica; Elgadbán, Javier; Fischer, Alfredo; Marceca, Ernesto; Mildenberger, Maria Amalia; Sturtz Nelson; Testa, Graciela; Tourville, Antonio; Zavala, Estela.

Ingredientes Farmacéuticos Activos y Productos Terminados

Abelaira, Sara; Acevedo, Maria Eugenia; Alarcon, Gabriela; Alassia de Torres, Liliana; Avancini Noceti, Constanza; Barredo, Silvia; Barros, Carmen; Bava, Adriana; Berndt, Sandra; Bianchi, Dario; Bianchini, Romina; Blanc, José; Boggian, Dora; Brandolini, Andres; Bruno, Claudia; Cancio, Julieta; Capellino, Víctor; Castellano, Patricia; Centrone, Claudio; Constanza; Ceresole, Rita; Chiarelli, Silvia; Circón de Vidal, Noemí; Calandri, Daniela; Carro, Vanesa; Castaña, Eduardo; Cereijo, María Inés (†); Chiamonte, Eduardo; Chiarelli, Silvia; Ciccio, Enrique; Diez, María Ester; Dominguez, Silvia; Ercolano, Irma; Fariña, Mirta; Faroppa, María; Fasanella, Marta; Fernández Otero, Germán; Ferrari, Maria; Gabor, Juliana; Garcia, Marcela; Garnero, Claudia; Giornelli, Gabriela; Gonzalez Cecilia; González, Soledad; Gonzalez

Vidal, Noelia; Greco, Olga; Herr, Victoria; Hoyos de Rossi, María; Irurtia, Lucila; Jimenez Kairuz, Alvaro; Lamas, María Celina; Larrinaga, Alicia; Larghi Enrique; Luque, Graciela; Laba, Raul; Lavaselli, Susana; Lloret, M. Antonia; Lopez, Marcelo; Lucangioli, Silvia; Luna, Julio; Lynch, Josefina; Maggio, Rubén; Manghi, Marcela; Marinero, Bautista; Martinez, Juan L.; Meneghini, Alejandro; Milazzo, Cecilia; Montes de Oca, Federico; Nacucchio, Marcelo; Ortega, Claudia; Palacios, Marcelo Luis; Palacios de Ortiz, Sara; Perez, Vanina; Pinet, Ana María; Piñeyro, Luisa; Ponce, Claudia; Porta, Raúl; Pozzo, María del Carmen; Prado, Hector; Quatrocchi, Oscar; Quijano, Ruben; Quiroga, Gladys; Raviolo, Mónica; Rivas, Raúl; Robles, Juan; Ricchiuti, Andrea; Roberto, Mónica; Rosasco, María Ana; Saavedra, Abel; Saint Martin, Eduardo; Sakson, Mario; Salomon, Claudio; Sanpedro, Pura; Safierowicz, Rosa; Scala, Mariela; Sedeño, Cristina; Segall, Adriana; Serrao, Rosa; Simionato, Laura; Soto, Pablo; Sproviero, Jorge; Suarez, Marcelo; Szeliga, María; Tombari, Dora; Valente, Gladys; Vazquez, Ana; Vega, Julio César; Varela López, Ramón; Vessuri, María; Vidal, Noelia; Yapur, Gustavo; Zan, Mercedes; Zinni, Elvira; Zoppi, Ariana; Zubata, Patricia.

Medicamentos Herbarios

Agnese, Alicia; Amat, Aníbal; Bucciarelli, Alejandro; Cabrera, José Luis; Chico, Sandra; Debenedetti, Silvia; Del Vitto, Luis Angel; Flores, María Luján; Gattuso, Martha; Gattuso, Susana; Gurni, Alberto; Lopez, Paula; Nadinic, Elena; Padula, Laura Z.; Petenatti, Elisa; Rizzo, Inés; Rondina, Rubén; Schvarzberg, Nora; Skliar, Mario; Spegazzini, Etile; Wagner, Marcelo; Wilson, Erica; Zeichen, Rita.

Microbiología

Albesa de Eraso, Inés; Arakaki, Regina; Balanian, Silvia Gladys; Belixán, Norma; Calvete, Javier; Cerra, Hector; Frade, Horacio; Franco, Mirta; Garcia, Carolina; Giraudo, Federico; Gutkin, Gabriel; Lagomarsino, Monica; Magariños María del Carmen, Pietrasanta, Beatriz; Raffo Palma, Martha; Salazar, Germán; Sordelli, Daniel; Stagnaro, Stella Maris; Telli, Herminia; Teves, Sergio; Torno, Graciela; Vivas, Ariel.

Productos Biológicos y Biotecnológicos

Albertengo, María Elisa (†); Aprea, Patricia; Barravecchia de Dehó, Martha; Brero, María Luisa; Caminos, Andrea; Copello, Cecilia; Dabsys,

Susana; Dokmetjian, José; Drucaroff, María Alejandra; Cascone; Corley, Esteban; Criscuolo, Marcelo; Esnaola, María Margarita; Fraga, Griselda; Francinelli, Luisa; García, Salvador; García Franco, Susana; Giampaolo, Beatriz; Gorzalczany, Susana; Goyogana, Francisco; Iglesias, Sergio; Mammarella, Carlos; Mondelo, Nélide; Nisenbaum, Isaac; Oliva, Liliana; Ostrowski, Héctor; Pardo, Verónica; Perez, Analia (†); Pombo, María Luz; Rodríguez, María Eugenia; Rossi, Marina; Seigelchifer, Mauricio; Sobrero, Cecilia; Yantorno, Osvaldo. Zarzur, Jorge.

Productos Médicos

Benitez, Sergio; Carbone, Nora; Costanzo, Ricardo; De Rose, María; Gago, Daniel; Gonzalez, María Celeste; Graña, Nora; Graziano, María Del Carmen; Herrera, Fanny; Iervasi, Liliana; Metz, Rita; Mosconi, Andrea; Peralta, Laura; Saba, Fernando; Sager de Agostini, Helga; Sialino, Rodolfo; Staravijosky, Alejandra; Tarletta, Patricia; Olivera de O'Connell, Lucía.

Radiofármacos

Aletti, Sabrina; Baigorria, Sergio; Bergoc, Rosa; Boccio, José; Cañelas, Carlos; Caro, Ricardo; Duran, Adrián; Fraga de Suarez, Amanda; Furnari, Juan Carlos; Nicolini, Jorge; Ruty Solá, Gisela; Samson, José Cembal; Zubillaga, Marcela.

Secretaría Técnica

Assalone, Melina Isabel; Dal Mas, Melina Andrea; De Angelis, María Celeste.

Revisores Técnicos

Compagnucci, María Eugenia; Gear, Jorgelina; Martinez, Andrea Verónica; Martinez, Valeria Soledad.

Agradecimientos

Silvia Boni, Patricia Zubata, Silvia Lavaselli, Soledad Risso Patrón y Giovanna Sibay Nughes por su colaboración en el capítulo 1050. *Formas Farmacéuticas*.

Ana María Chan y María José Arrechea por su colaboración en el capítulo 345. *Ensayo de Salmonella/fracción microsomal (Test de Ames) para detección de mutagenicidad*.

A los Laboratorios que colaboraron en la presente Edición.

FARMACOPEA ARGENTINA SÉPTIMA EDICIÓN

CUARTO VOLUMEN

ÍNDICE GENERAL

Consideraciones Generales

Métodos Generales de Análisis

- <10> - Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos
- <20> - Análisis térmico
- <70> - Conductividad
- <75> - Conductividad en agua calidad farmacéutica
- <90> - Control microbiológico de productos no obligatoriamente estériles
- <225> - Determinación del índice de peróxidos
- <335> - Ensayo de micobacterias
- <336> - Ensayo de micoplasmas
- <339> - Ensayo de neurovirulencia para vacunas a virus vivo
- <345> - Ensayo de *Salmonella*/fracción microsomal (Test de Ames) para detección de mutagenicidad
- <360> - Ensayo de toxicidad anormal
- <370> - Ensayos de esterilidad
- <383> - Ensayos de suturas
- <385> - Ensayos en hemoderivados
- <415> - Ensayo para agentes extraños en vacunas virales
- <420> - Envases primarios de plástico
- <435> - Envases para productos médicos estériles
- <475> - Esterilización

- <590> - Límite de metales pesados
- <625> - Métodos de análisis para Gases Medicinales
- <635> - Métodos inmunoquímicos
- <740> - Uniformidad de unidades de dosificación
- <745> - Vacunas de uso humano

Textos de Información General

- <1005> - Agua Calidad Farmacéutica
- <1013> - Buenas prácticas de dispensación en la farmacia oficial comunitaria y hospitalaria
- <1025> - Buenas prácticas para la manipulación de medicamentos citostáticos endovenosos en centros asistenciales
- <1027> - Buenas prácticas de preparación de medicamentos magistrales
- <1030> - Criaderos de pollos libres de patógenos especificados para la producción y control de calidad de las vacunas
- <1033> - Cuidados paliativos
- <1035> - Equivalencia entre medicamentos
- <1050> - Formas farmacéuticas
- <1095> - Polimorfismo
- <1125> - Sustratos celulares para la producción de vacunas de uso humano

NUEVAS CONSIDERACIONES GENERALES

NUEVAS CONSIDERACIONES GENERALES

La Farmacopea es el texto oficial que codifica los principios activos, excipientes y productos farmacéuticos y contiene las especificaciones que éstos deben cumplir para demostrar su calidad y resguardar la salud de la población.

Generalidades

Estas consideraciones generales se aplicarán a las monografías, capítulos generales u otros textos incluidos en esta Farmacopea.

La expresión “Oficial” significa “de la Farmacopea Argentina” y se refiere a cualquier título, sustancia, preparación o ensayo incluido en las monografías y capítulos.

Las iniciales *FA*, acompañando al nombre oficial en el rótulo de un producto, indica que el mismo cumple con las especificaciones de la Farmacopea Argentina, aunque esto no constituye una certificación por parte de la misma.

El uso del título de una monografía supone que la sustancia, preparación o producto así designado se ajusta a las especificaciones de la monografía correspondiente. Tales referencias en los textos de la Farmacopea se indican mediante el título de la monografía en letra cursiva.

Tanto las monografías como los capítulos generales pueden contener excepciones a estas Consideraciones Generales, las mismas serán señaladas explícitamente, al igual que el procedimiento a seguir en cada caso. Para destacar la existencia de excepciones, se agregará la expresión: “*A menos que se especifique de otro modo*”. Asimismo, en caso de ausencia de una excepción explícita, las expresiones deberán interpretarse como se indica en este documento.

Los ensayos y valoraciones descriptos son los métodos oficiales sobre los cuales se fundamentan las especificaciones de la Farmacopea.

Para evitar repetir instrucciones comunes a un ensayo determinado, en las monografías, se establecen los requisitos en forma abreviada, indicando el nombre del capítulo correspondiente con un número de orden asignado entre los símbolos <y>, como por ej. <100>. *Cromatografía*, que luego es apropiadamente desarrollado en la sección *Métodos Generales de Análisis*.

Todas las declaraciones contenidas en las monografías, con las excepciones dadas más adelante, constituyen normas para las sustancias oficiales. Una sustancia es de calidad Farmacopea

Argentina cuando cumple con todos los requisitos establecidos en la monografía respectiva.

Los ensayos elegidos se han ideado para detectar o determinar las impurezas más significativas y para fijar el contenido límite de aquellas.

Definiciones

Medicamento: toda preparación o producto farmacéutico empleado para la prevención, diagnóstico y/o tratamiento de una enfermedad o estado patológico, o para modificar sistemas fisiológicos en beneficio de la persona a quien se le administra.

Principio activo o droga farmacéutica: toda sustancia química o mezcla de sustancias relacionadas, de origen natural o sintético, que poseyendo un efecto farmacológico específico, se emplea en medicina humana.

Especialidad medicinal o farmacéutica: todo medicamento, designado por un nombre convencional, sea o no una marca de fábrica o comercial, o por el nombre genérico que corresponda a su composición y contenido, preparado y envasado uniformemente para su distribución y expendio, de composición cuantitativa definida declarada y verificable, de forma farmacéutica estable y acción terapéutica comprobable.

Nombre genérico: denominación de un principio activo o droga farmacéutica o, cuando corresponda, de una asociación o combinación de principios activos a dosis fijas, adoptada por la Autoridad Sanitaria Nacional o, en su defecto, la denominación común internacional de un principio activo recomendada por la Organización Mundial de la Salud.

Excipiente: es toda sustancia de origen natural o sintética presente en una preparación farmacéutica incorporada sin propósito terapéutico.

Producto farmacéutico: es un preparado que contiene uno o varios principios activos y excipientes, formulados bajo una determinada forma farmacéutica. Suele emplearse “preparación farmacéutica” como sinónimo de “producto farmacéutico”, para referirse tanto al producto a granel como al producto terminado.

Forma Farmacéutica: Es el producto proveniente de la transformación de un principio activo o de una asociación de los mismos mediante procedimientos fármacotécnicos, a fin de conferirles características físicas y morfológicas particulares para su adecuada dosificación y

conservación, y que faciliten su administración y acción farmacológica.

Interpretación de los requisitos

Las normas farmacopeicas definen las características de un producto y establecen los ensayos que permiten demostrar que el mismo satisface los requisitos elementales de calidad, exigidos por la Autoridad Sanitaria.

Estas normas se aplican en cualquier momento de la vida útil del producto, desde la elaboración hasta su fecha de vencimiento.

No debe entenderse que el cumplimiento de las especificaciones establecidas en la monografía a muestras de un lote de producción asegure el cumplimiento de las normas farmacopeicas de todos los componentes del lote.

Los datos obtenidos a partir de estudios de validación del proceso de fabricación y de controles efectuados durante el proceso pueden dar mayores garantías del cumplimiento de los requisitos de una monografía en particular, que la información obtenida a partir del examen de un número determinado de unidades de ese lote.

Las tolerancias y límites expresados en las definiciones de las monografías son para compensar las variaciones inevitables durante la preparación del producto y el deterioro normal que se produce durante la vida útil del mismo.

Cuando se expresan límites en forma numérica, los límites superior e inferior de un intervalo incluyen esos dos valores y todos los valores intermedios.

Es recomendable para la liberación de lotes, establecer especificaciones más estrictas que las contempladas bajo el título *Definición*, a fin de que el contenido del producto se encuentre siempre dentro de los límites establecidos pese a la caída de título normal que puede ocurrir durante la vida útil del producto. Dichas especificaciones para la liberación deberían surgir a partir de los datos obtenidos durante el estudio de estabilidad del producto (ver 1040. *Estudios de estabilidad*).

Los límites expresados en las definiciones de las monografías y en las especificaciones de los ensayos, independientemente de que éstos estén expresados en porcentajes o valores absolutos, son valores significativos hasta el último dígito.

En los procedimientos volumétricos, se establece el peso de la sustancia analizada que equivale a cada mililitro del valorante estandarizado. En estos casos, se entiende que el número de cifras significativas en la concentración del valorante corresponde al número de cifras significativas en el peso de la sustancia analizada. Se deberán hacer las correcciones con respecto al

blanco para todas las valoraciones volumétricas según corresponda (ver 780. *Volumetría*).

Cuando el resultado deba calcularse con referencia a la *sustancia seca*, se hará uso de las condiciones de secado que se indiquen en el ensayo *Pérdida por secado* en la monografía. Cuando el resultado se calcule con referencia a la *sustancia anhidra*, el contenido de agua será determinado por el método descrito en la monografía bajo el subtítulo *Agua*.

Actualizaciones

Se considera una *actualización total* cuando todo el texto reemplaza al de la edición anterior; por ej., <590>. *Límite de metales pesados*, identificándose con un asterisco en el índice alfabético (*) y, en el título del texto actualizado, se encontrará la leyenda “*Actualización total*”. Se considera una *actualización parcial* cuando sólo una parte del texto ha sido modificada, identificándose con un asterisco en el índice alfabético (*) y, en el título del texto actualizado, se encontrará la leyenda “*Actualización parcial*”. En este último caso se encontrará subrayado el fragmento del texto que ha sido actualizado.

Expresión de concentraciones

Los porcentajes de concentración se expresan de la siguiente manera:

Porcentaje peso en peso (% p/p): expresa el número de gramos de un soluto en 100 g de solución o mezcla.

Porcentaje peso en volumen (% p/v): expresa el número de gramos de un soluto en 100 ml de solución, y se utiliza prescindiendo de que el diluyente en cuestión sea agua u otro líquido.

Porcentaje volumen en volumen (% v/v): expresa el número de mililitros de un soluto en 100 ml de solución.

La expresión *porcentaje* empleada sin otro calificativo significa: porcentaje peso en peso para mezclas de sólidos y semisólidos, porcentaje peso en volumen para soluciones o suspensiones de sólidos en líquidos, porcentaje volumen en volumen para soluciones de líquidos en líquidos y porcentaje peso en volumen para soluciones de gases en líquidos.

Sustancias de Referencia

Sustancia de Referencia Farmacopea Argentina [SR-FA] - Material de uniformidad comprobada, cuya monografía ha sido incluida en la *Farmacopea Argentina*, desarrollado a través de ensayos colaborativos avalados por esta Farmacopea y A.N.M.A.T – I.N.A.M.E, cuyo empleo se reserva a ensayos químicos y físicos específicos en los que se

comparan sus propiedades con las de un producto problema y que posee un grado de pureza adecuado para el uso al que se destina.

Cuando una *Sustancia de Referencia Farmacopea Argentina* no esté disponible, deberá emplearse aquella equivalente reconocida por esta Farmacopea.

Sustancias auxiliares

Se denomina *Sustancia auxiliar* a cualquier sustancia incorporada a las preparaciones oficiales, tales como colorantes, conservantes saborizantes. La misma deberá ser inocua o agregada en una proporción que garantice la inocuidad, no tener influencia adversa sobre la seguridad y eficacia terapéutica de los principios activos y no interferir en los ensayos y valoraciones.

Sustancia oficial es aquella que no contiene sustancias auxiliares agregadas salvo que se permita específicamente en la monografía correspondiente. En este caso, el rótulo deberá indicar los nombres y las cantidades de las sustancias auxiliares agregadas.

Colorantes: son sustancias auxiliares incorporadas a las preparaciones oficiales exclusivamente para dar color. Deberán satisfacer las especificaciones establecidas (ver 50. *Colorantes de uso farmacéutico*).

Conservantes: son sustancias auxiliares que se agregan a las preparaciones oficiales para protegerlas de la contaminación microbiana. La expresión “*conservante antimicrobiano apropiado*” implica que puede agregarse al preparado una sustancia auxiliar, siempre que cumplan con las especificaciones establecidas (ver 80. *Conservantes*).

Reactivos

La realización correcta de ensayos y valoraciones de esta Farmacopea, así como la obtención de resultados reproducibles y confiables, depende de la calidad de los reactivos empleados.

Todos los reactivos requeridos para los ensayos y valoraciones se definen en *Reactivos y Soluciones*.

Abreviaturas

La sigla *SR-FA* corresponde a *Sustancia de referencia de la FA*.

Las siglas (*SC*) y (*SR*) corresponden a *Solución Colorimétrica* y *Solución de Reactivo*, respectivamente indicadas en *Reactivos y Soluciones*.

La sigla (*SV*) corresponde a *Solución Volumétrica* e indica que tal solución está estandarizada de acuerdo con las instrucciones

dadas en la monografía respectiva o bajo el título *Soluciones volumétricas en Reactivos y Soluciones*.

La sigla (*SL*) corresponde a *Solución Límite* e indica que dicha solución es empleada para ensayos límite.

Agua

La expresión agua, empleada sin otra calificación significa *Agua purificada* y agua libre de dióxido de carbono, es *Agua purificada* que ha sido calentada a ebullición durante al menos 5 minutos y enfriada en forma tal de evitar la absorción de dióxido de carbono atmosférico.

Agua purificada estéril - Es el *Agua purificada* esterilizada. Se emplea en la preparación de formas farmacéuticas líquidas no parenterales en las que se requiera una forma estéril de *Agua purificada*.

Agua para inyectables - La fuente de agua es agua potable, previamente purificada y sometida a destilación u ósmosis reversa de doble paso. Debe cumplir con todos los requisitos de *Agua purificada* y además con los requisitos del ensayo de endotoxinas bacterianas (ver 330. *Ensayo de endotoxinas bacterianas*).

Agua estéril para inyectables - Es *Agua para inyectables* esterilizada. Se emplea principalmente como solvente de productos parenterales.

Agua bacteriostática para inyectables - Es *Agua estéril para inyectables* a la cual se le ha agregado uno o varios conservantes apropiados. Se utiliza como solvente de preparados parenterales. Puede envasarse en envases monodosis o multidosis de un tamaño no mayor a 30 ml.

Agua estéril para irrigación - Es *Agua para inyectables* esterilizada en envases monodosis de más de 1 litro destinados a una rápida descarga del contenido. No necesita cumplir con el ensayo 650. *Partículas en inyectables*.

Agua estéril para inhalación - Es *Agua para inyectables* envasada en envases monodosis no mayores a 20 ml y esterilizada. Se emplea en nebulizadores y en la preparación de soluciones para nebulizar.

Solución fisiológica

Cuando en las monografías o capítulos generales se indique *Solución fisiológica* emplear una solución de cloruro de sodio al 0,9 % en agua purificada.

Solución fisiológica estéril - Es una solución de cloruro de sodio al 0,9 % en agua para inyectables que cumple con los requisitos de 370. *Ensayo de Esterilidad*.

Solución fisiológica para nebulizar - Es una solución de cloruro de sodio al 0,90 % en agua purificada preparada sin el agregado de

conservantes, conservada en envases monodosis de hasta 20 ml, con ausencia de gérmenes revivificables en un mililitro y en cuyo rótulo se indica: “*Solución fisiológica para nebulizar. No inyectable*”.

MONOGRAFÍAS

Fórmula Química

Cuando se conoce la composición química de una sustancia oficial, se especifica a título informativo la fórmula molecular y desarrollada, el peso molecular y el número CAS (Chemical Abstracts Service). Esta información se refiere a la sustancia químicamente pura y no se considera un indicador de la pureza del material oficial.

Cuando se especifica la configuración estereoquímica absoluta, se emplean los sistemas de designación propuestos por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) *R/S* y *E/Z*.

El nombre químico será otorgado según las reglas propuestas por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC).

Caracteres Generales

Las afirmaciones comprendidas bajo el subtítulo *Caracteres generales* referidas a términos como

inodoro, prácticamente inodoro, con un débil olor característico o expresiones semejantes, se aplican al examen después de la exposición al aire durante 15 minutos de un envase recientemente abierto del producto (envases que contengan no más de 25 g) o de una porción de aproximadamente 25 g del producto (en caso de envases más grandes) que haya sido trasladada de su envase a un cristizador, con una capacidad de aproximadamente 100 ml. Solo se hará mención a este tipo de características cuando la misma sea un elemento relevante en la descripción del principio activo.

Solubilidad

El término parcialmente soluble se emplea en el caso de una mezcla en la que sólo una parte de sus componentes se disuelve. El término miscible se emplea para describir un líquido que es miscible en todas las proporciones con el solvente indicado.

Las indicaciones de solubilidad que figuran bajo el epígrafe *Caracteres generales* se expresan en términos cuyo significado, referido a una temperatura entre 15 y 30 °C, es el siguiente:

<i>Término descriptivo</i>	<i>Volúmenes aproximados de solvente en mililitros por gramo de sustancia</i>
Muy soluble	Inferior a 1
Fácilmente soluble	De 1 a 10
Soluble	De 10 a 30
Moderadamente soluble	De 30 a 100
Poco soluble	De 100 a 1.000
Muy poco soluble	De 1.000 a 10.000
Prácticamente insoluble	Más de 10.000

Identificación

Los ensayos de la Farmacopea que figuran después del subtítulo *Identificación* no están destinados a proporcionar una confirmación completa de la estructura química o composición del producto; su objeto es confirmar que el producto se ajusta a la descripción dada en el rótulo del envase. Cuando un producto no satisface los requisitos de un ensayo de identificación descripto, indica que el mismo no cumple con las especificaciones. Otros ensayos o especificaciones en la monografía a menudo contribuyen a establecer o confirmar la identidad del producto ensayado.

A menos que se indique lo contrario en la monografía individual, todos los ensayos identificatorios son de carácter obligatorio y por ende, necesarios para demostrar que el producto cumple con la descripción dada en el rótulo.

Ensayos y valoraciones

Los ensayos y las valoraciones descritas en esta Farmacopea constituyen los métodos oficiales de análisis. Se podrá emplear ensayos alternativos, previamente validados (ver 1130. Validación de métodos analíticos), si éstos demuestran otorgar ventajas desde el punto de vista de la exactitud, precisión, sensibilidad, selectividad o simplificar el procedimiento sin modificar los atributos anteriores. Sin embargo, en caso de indecisión o litigio, los ensayos descriptos en esta Farmacopea serán los definitivos.

La concentración de impurezas establecida en ciertos ensayos se expresa entre paréntesis como porcentaje o partes por millón (ppm). En el caso que corresponda, el cumplimiento de este ensayo

será necesario para establecer la conformidad de un producto. Cuando corresponda, deberán realizarse análisis complementarios según se indica más abajo en *Atributos adicionales*.

Los materiales volumétricos, pesas y balanzas deberán ajustarse a las especificaciones establecidas en los capítulos <620>. *Materiales volumétricos* y <690>. *Pesas y balanzas*.

Cuando en un ensayo o valoración se indique que se debe examinar una cierta cantidad de sustancia o un número exacto de unidades de dosificación, la cantidad especificada representa un número mínimo que se elige únicamente para facilitar la manipulación analítica. Esto de ninguna manera limita la cantidad total de material a emplear.

Procedimientos

En todos los ensayos descritos en esta Farmacopea, se deberá cumplir estrictamente con las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL).

La utilización de las siguientes expresiones se refieren a:

Blanco: cuando se indique que se deben hacer las correcciones necesarias por medio de una determinación con un control, tal determinación se hará empleando las mismas cantidades de los reactivos tratados de igual manera que la solución o mezcla que contiene la sustancia bajo valoración o ensayo, pero omitiendo dicha sustancia.

Baño de agua: cuando se indique el empleo de *baño de agua*, se empleará un baño de agua a ebullición salvo que se indique una temperatura distinta.

Baño de vapor: cuando se indique el empleo de *baño de vapor*, podrá emplearse la exposición al vapor vivo fluente u otra forma de calor regulado, a una temperatura equivalente a la del vapor fluente.

Cepas microbianas: cuando se cita una *cepa microbiana* y se la identifica por el número de catálogo ATCC (American Type Culture Collection) o de otra colección similar, la cepa específica se empleará directamente o, si se subcultiva, se emplearán no más de cinco pasajes a partir de la cepa original.

Comparación de color: cuando se indique una *comparación visual de color o de turbidez*, deberán emplearse tubos de comparación de fondo plano (tubos de Nessler) cuyas medidas internas se correspondan lo más estrechamente posible. Para la comparación del color, los tubos en posición vertical deberán ser observados longitudinalmente a lo largo del tubo con una fuente de luz difusa sobre un fondo blanco, mientras que para la comparación de turbidez deberán ser observados transversalmente, colocados sobre un fondo oscuro,

con ayuda de una fuente luminosa que los ilumine lateralmente.

Cuantitativamente y en etapas: cuando se indique que una solución debe ser diluida cuantitativamente y en etapas, una porción medida con exactitud será disuelta en agua u otro solvente en la proporción indicada en uno o más pasos. La elección del material volumétrico a emplearse deberá tener en cuenta los errores relativamente grandes que generalmente se asocian a materiales volumétricos de volumen pequeño (ver 620. *Materiales volumétricos*).

Densidad relativa: cuando no se indique lo contrario, la densidad relativa se calculará como la relación entre el peso de un volumen determinado de una sustancia en el aire a 25 °C y el peso de un volumen igual de agua a esa misma temperatura.

Desecador: la expresión *en un desecador* especifica el empleo de un recipiente perfectamente cerrado, de tamaño y forma apropiados, que mantenga una atmósfera de bajo contenido de humedad mediante gel de sílice u otro desecante apropiado.

Filtrar: cuando se indique filtrar, sin otra calificación, se entenderá que el líquido debe ser filtrado a través de papel de filtro apropiado o con un medio equivalente de modo que el filtrado sea claro.

Ignición hasta peso constante: significa que deberá continuarse la ignición a 800 ± 25 °C a menos que se indique de otro modo, hasta que dos pesadas consecutivas no difieran en más de 0,50 mg por gramo de sustancia ensayada, haciendo la segunda pesada después de un período de 15 minutos de ignición adicional.

Indicador: cuando una solución de reactivo se utilice como indicador, se agregarán aproximadamente 0,2 ml o 3 gotas de la solución, generalmente cerca del punto final, a menos que se indique de otro modo.

Medidas de presión: el término *mm Hg* empleado en referencia a mediciones de presión se refiere al uso de un manómetro apropiado o un barómetro calibrado en términos de la presión ejercida por una columna de mercurio de la altura indicada.

Pesar y medir exactamente: las expresiones *pesar exactamente alrededor de* o *medir exactamente alrededor de* indican que se debe tomar una cantidad dentro de 100 ± 10 % del peso o volumen especificado. Sin embargo, el peso o volumen que se tome deberá ser determinado con exactitud y el resultado calculado sobre la base de la cantidad que se haya tomado. Se pueden tomar cantidades proporcionalmente mayores o menores que los pesos y volúmenes especificados, tanto para

la *Sustancia de Referencia* como para la sustancia en ensayo, siempre que la medida se tome con exactitud y que se ajusten a los pasos siguientes, para proporcionar concentraciones equivalentes a las descriptas. Expresiones tales como *25,0 ml* y *25,0 mg* se emplean en relación a medidas de volumen o de peso e indican que la cantidad debe ser *medida o pesada exactamente* dentro de los límites establecidos en los capítulos <620>. *Materiales volumétricos* o <690>. *Pesas y balanzas*.

Pipetas: cuando se indique el uso de una pipeta para medir un volumen, aquélla deberá cumplir con los requisitos establecidos en el capítulo <620>. *Materiales volumétricos* y deberá emplearse de manera que el error no exceda el límite establecido para una pipeta del tamaño especificado. Cuando se especifica el empleo de una pipeta, ésta puede sustituirse por una bureta apropiada que cumpla con los requisitos especificados en <620>. *Materiales volumétricos*.

Secado hasta peso constante: significa que deberá continuarse el secado a menos que se indique de otro modo, hasta que dos pesadas consecutivas no difieran en más de 0,50 mg por gramo de sustancia ensayada, haciendo la segunda pesada después de una hora adicional de secado; según la metodología establecida en la monografía correspondiente.

Soluciones: la expresión *1 en 10* significa que 1 parte en volumen de un líquido debe diluirse con, o 1 parte *en peso* de un sólido debe disolverse en suficiente solvente para que el volumen de la solución final sea de 10 partes en *volumen*.

La expresión *10:6:1* significa que los números respectivos de partes, en volumen, de los líquidos señalados deberán mezclarse, a menos que se indique de otro modo.

La expresión partes por millón (ppm) sin otra precisión, se refiere a peso con respecto a un millón de partes en peso.

Solventes: cuando no se menciona explícitamente el solvente, se entiende que la muestra es disuelta en agua.

Temperaturas: todas las temperaturas en esta Farmacopea se expresan en grados centígrados (Celsius) y todas las mediciones se hacen a 25 °C, a menos que se especifique de otro modo.

Tiempo límite: al efectuar ensayos y valoraciones se aguardará 5 minutos para que se produzca la reacción, a menos que se especifique de otro modo.

Vacío: el término *al vacío* especifica la exposición a una presión menor de 20 mm Hg, a menos que se indique de otro modo. Cuando se especifique en la monografía correspondiente la

dsecación al vacío sobre un desecante, se deberá emplear un desecador al vacío, una pistola para desecar al vacío u otro instrumento apropiado para este fin.

ATRIBUTOS ADICIONALES

Además de cumplir los requisitos de los ensayos de Sustancias relacionadas, Pureza cromatográfica y Límite de impurezas, descriptos en las monografías correspondientes, el análisis de las materias primas deberá complementarse mediante la búsqueda de impurezas de síntesis y sustancias relacionadas según su origen.

MÉTODOS GENERALES DE ANÁLISIS

Cada capítulo general es designado por un número de orden seguido del nombre del mismo. Estos capítulos que incluyen los requerimientos generales para ensayos y valoraciones son numerados de 1 a 990 y los capítulos que forman los textos de información general son numerados a partir de 1000.

UNIDADES DE POTENCIA BIOLÓGICA

Para las sustancias que no puedan ser caracterizadas completamente por medios químicos o físicos, podrá ser necesario expresar la actividad en unidades de potencia biológica.

Las unidades de potencia biológica definidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) a través de Estándares Biológicos Internacionales y Preparaciones Biológicas de Referencia Internacionales son denominadas Unidades Internacionales (UI). Las unidades definidas en la *FA* son Unidades Internacionales y las monografías correspondientes se refieren a éstas.

Para los antibióticos cuya potencia se expresa en unidades, éstas son definidas por las correspondientes *Sustancias de referencia SR-FA*. Cada unidad es en general establecida, basada en la definición de la Unidad Internacional de la OMS. Sin embargo, para la mayoría de los antibióticos no son necesarias las unidades biológicas de potencia y su actividad se expresa en unidades métricas (microgramos o miligramos) en función de sustancias químicamente definidas descriptas en las monografías correspondientes.

ELABORACIÓN DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS

La elaboración de productos farmacéuticos deberá realizarse cumpliendo con la normativa

vigente de Buenas prácticas de fabricación, establecidas por la Autoridad Sanitaria y el producto resultante deberá cumplir con los requisitos técnicos establecidos en esta Farmacopea.

CONSERVACIÓN

Envases

Los requisitos farmacopeicos para el empleo de envases se especifican en las monografías correspondientes.

El empleo de las siguientes expresiones descriptas en esta Farmacopea se refieren a:

Envase con cierre inviolable: es aquél provisto de un dispositivo especial que revela inequívocamente si ha sido abierto.

Envase inactivo: es aquél que protege el contenido de los efectos de la luz, gracias a las propiedades específicas de los materiales con que está compuesto.

Envase bien cerrado: es el que evita el ingreso de sólidos extraños y la pérdida del contenido bajo las condiciones usuales de manejo, almacenamiento, distribución y transporte.

Envase de cierre perfecto: es aquél que protege el contenido de la contaminación con sustancias extrañas y evita la entrada de humedad, impidiendo la efervescencia, delicuescencia o evaporación bajo las condiciones usuales de manejo, almacenamiento, transporte, manteniendo su condición de cierre perfecto después de su manipulación.

Envase hermético: es aquel que no permite la entrada de sólidos, líquidos o gases en las condiciones usuales de manejo, almacenamiento, distribución y transporte.

Envase seguro para niños: es aquel que posee un mecanismo tal que dificulta su apertura directa. Dichos envases sólo pueden ser abiertos luego de recibir las instrucciones pertinentes.

Envase monodosis: es aquel que está diseñado para contener una cantidad de sustancia destinada a administrarse en una única dosis, inmediatamente después de abierto.

Envase multidosis: es aquel que permite la extracción de porciones sucesivas del contenido sin cambios en la potencia, calidad o pureza de la porción remanente.

Condiciones de almacenamiento

El almacenamiento de productos debe ser realizado en condiciones adecuadas de temperatura, humedad e iluminación de acuerdo con las instrucciones del fabricante, de manera de no afectar adversamente de forma directa o indirecta,

la calidad de los mismos. Este concepto debe extenderse a la distribución y transporte.

Las sustancias y las preparaciones descriptas deberán almacenarse a temperatura ambiente, a menos que se especifique de otro modo.

El empleo de las siguientes expresiones descriptas en esta Farmacopea se refieren a:

Almacenar en un freezer: corresponde al almacenamiento del producto a una temperatura establecida entre - 25 y - 10 °C.

Almacenar en un sitio frío: corresponde al almacenamiento del producto a una temperatura que no exceda los 8 °C. Una *heladera/refrigerador* es un sitio frío con una temperatura que se mantiene termostáticamente entre 2 y 8 °C.

Almacenar en un sitio fresco: corresponde al almacenamiento del producto a temperatura entre 8 y 15 °C. Las cámaras frías permiten obtener estas condiciones.

Almacenar a temperatura ambiente: corresponde al almacenamiento a temperatura entre 15 y 30 °C. Este concepto está relacionado al almacenamiento en depósitos de laboratorios de especialidades medicinales y distribuidoras.

Almacenar a temperatura ambiente controlada: corresponde al almacenamiento de un producto a temperatura termostáticamente controlada entre 20 y 25 °C.

En algunas monografías pueden indicarse las siguientes expresiones:

“Evitar almacenar en ambientes cálidos” definiendo *cálido* a temperatura entre 30 y 40 °C.

“Evitar el calor excesivo”, definiendo *calor excesivo* a temperatura superior a 40 °C.

“Evitar el congelamiento” en los casos en que el mismo ocasionara la pérdida de potencia o cambio en las características fisicoquímicas de un producto.

Indicaciones generales:

- No deben retirarse los medicamentos de sus envases primario y secundario.
- No deben exponerse los productos al sol ni a las temperaturas extremas.
- Se debe evitar almacenar los medicamentos en ambientes húmedos.
- No deben almacenarse medicamentos en heladera excepto que dicha condición se encuentre indicada en el rótulo, prospecto y/o envase.

ROTULADO

El rótulo de cada producto deberá establecer el contenido del o de los principios activos expresados en las monografías.

Cantidad de principio activo por unidad de dosificación: la potencia de un producto se expresa en el rótulo del envase como microgramos, miligramos, gramos, porcentaje del ingrediente, o unidad internacional terapéuticamente activa presente en la preparación.

Las formas farmacéuticas como cápsulas, comprimidos u otras formas de dosificación deberán rotularse de modo que expresen la cantidad de cada principio activo contenido en cada unidad de dosificación.

En el caso de líquidos de administración oral o sólidos para reconstituir, deberán rotularse en términos, como por ej., *cada 5 mililitros* del líquido o del preparado resultante.

Rotulado de electrolitos: la concentración y dosificación de electrolitos para terapias de reposición deberá especificarse en miliequivalentes-gramo (mEq).

Rotulado del contenido alcohólico: el contenido de alcohol en una preparación líquida deberá especificarse como % v/v de etanol.

Fecha de vencimiento: la fecha de vencimiento identifica el fin del período de vida útil del

producto, durante el cual el mismo deberá cumplir con los requisitos establecidos en la presente Farmacopea, siempre que se conserve en las condiciones de almacenamiento establecidas.

Todos los productos deberán exhibir la fecha de vencimiento en el rótulo y en su envase primario, la cual es asignada a través de estudios de estabilidad realizados para esa formulación en un envase predefinido y autorizado por la Autoridad Sanitaria. Cuando la fecha de vencimiento se indique como Mes/Año, la misma incluye hasta el último día del mes indicado.

UNIDADES DEL SISTEMA INTERNACIONAL (SI) Y EQUIVALENCIA CON OTRAS UNIDADES DE MEDIDA

Los nombres y símbolos empleados en la *Farmacopea Argentina* para las unidades de medición son los del Sistema Internacional de Unidades (SI), establecido por la Conferencia General de Pesas y Medidas. Comprende tres clases de unidades: unidades básicas, unidades derivadas y unidades complementarias.

Cantidad		Unidad	
Nombre	Símbolo	Nombre	Símbolo
Longitud	<i>l</i>	metro	M
Masa	<i>m</i>	kilogramo	Kg
Tiempo	<i>t</i>	segundo	S
Corriente eléctrica	<i>I</i>	amperio	A
Temperatura termodinámica	<i>T</i>	kelvin	K
Cantidad de sustancia	<i>n</i>	mol	Mol
Intensidad luminosa	<i>I_v</i>	candela	Cd

Unidades utilizadas con el SI

Cantidad	Unidad		Valor en unidades SI
	Nombre	Símbolo	
Tiempo	Minuto	<i>min</i>	1 min = 60 s
	Hora	<i>h</i>	1 h = 60 min = 3.600 s
	Día	<i>d</i>	1 d = 24 h = 86.400 s
Ángulo plano	Grado	°	1° = (π/180) rad
Volumen	Litro	<i>l</i>	1 l = 1 dm ³ = 10 ⁻³ m ³
Masa	Tonelada	<i>t</i>	1 t = 10 ³ kg
Frecuencia de giro	revolución por minuto	<i>rpm</i>	1 rpm = (1/60) s ⁻¹

Múltiplos y submúltiplos decimales de las unidades

Factor	Prefijo	Símbolo	Factor	Prefijo	Símbolo
10 ¹⁸	exa	<i>E</i>	10 ⁻¹	deci	<i>d</i>
10 ¹⁵	peta	<i>P</i>	10 ⁻²	centi	<i>c</i>

10^{12}	tera	T	10^{-3}	mili	m
10^9	giga	G	10^{-6}	micro	μ
10^6	mega	M	10^{-9}	nano	n
10^3	kilo	k	10^{-12}	pico	p
10^2	hecto	h	10^{-15}	femto	f
10^1	deca	da	10^{-18}	atto	a

Unidades SI utilizadas en la *Farmacopea Argentina* y su equivalencia con otras unidades

Cantidad		Unidad				Conversión de otras unidades en unidades SI
Nombre	Símbolo	Nombre	Símbolo	Expresión en unidades SI básicas	Expresión en otras unidades SI	
Número de onda	ν	uno por metro	1/m	m^{-1}		
Longitud de onda	λ	micrómetro	μm	10^{-6}m		
		nanómetro	Nm	10^{-9}m		
Frecuencia	ν	hertz	Hz	s^{-1}		
Área	A, S	metro cuadrado	m^2	m^2		
Volumen	V	metro cúbico	m^3	m^3		$1 \text{ ml} = 1 \text{ cm}^3 = 10^{-6}\text{m}^3$
Densidad (concentración de masa)	ρ	kilogramo por metro cúbico	kg/m^3	kg m^{-3}		$1\text{g}/\text{ml}=1\text{g}/\text{cm}^3=10^3\text{kg}/\text{m}^3$
Velocidad	v	metro por segundo	m/s	m s^{-1}		
Fuerza	F	newton	N	m kg s^{-2}		$1 \text{ dina} = 1 \text{ g cm s}^{-2} = 10^{-5}\text{N}$ $1 \text{ kp} = 9,80665 \text{ N}$
Presión	P	pascal	Pa	$\text{m}^{-1} \text{ kg s}^{-2}$	N m^{-2}	$1 \text{ dina}/\text{cm}^2 = 10^{-1}\text{Pa} = 10^{-1} \text{ N m}^{-2}$
						$1 \text{ atm} = 101,325 \text{ Pa} = 101,325 \text{ kPa}$
						$1 \text{ bar} = 105 \text{ kPa} = 0,1 \text{ Mpa}$
						$1 \text{ mmHg} = 133,322387 \text{ Pa}$
						$1 \text{ Torr} = 133,322368 \text{ Pa}$
$1 \text{ psi} = 6,894757 \text{ kPa}$						
Viscosidad absoluta	η	pascal segundo	Pa s	$\text{m}^{-1} \text{ kg s}^{-1}$	N s m^{-2}	$1 \text{ P} = 10^{-1} \text{ Pa s} = 10^{-1} \text{ N s m}^{-2}$ $1 \text{ cP} = 1 \text{ mPa s}$
Viscosidad cinemática	ν	metro cuadrado por segundo	m^2/s	$\text{m}^2 \text{ s}^{-1}$	$\text{Pa s m}^3 \text{ kg}^{-1}$ N m s kg^{-1}	$1 \text{ St} = 1 \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1} = 10^{-4} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$
Energía	W	joule	J	$\text{m}^2 \text{ km s}^{-2}$	N m	$1 \text{ erg} = 1 \text{ cm}^3 \text{ g s}^{-2} = 1 \text{ dina cm} = 10^{-1} \text{ J}$ $1 \text{ cal} = 4,1868 \text{ J}$
Potencia (flujo de radiación)	P	watio	W	$\text{m}^2 \text{ km s}^{-3}$	N m s^{-1} J s^{-1}	$1 \text{ erg}/\text{s} = 1 \text{ dina cm s}^{-1} = 10^{-7} \text{ W} = 10^{-7} \text{ N m s}^{-1} = 10^{-7} \text{ J s}^{-1}$
Dosis absorbida (energía radiante)	D	gray	Gy	$\text{m}^2 \text{ s}^{-2}$	J kg^{-1}	$1 \text{ rad} = 10^{-2} \text{ Gy}$
Potencial eléctrico (fuerza electromotriz)	U	volt	V	$\text{m}^2 \text{ kg s}^{-3} \text{ A}^{-1}$	W A^{-1}	
Resistencia eléctrica	R	ohm	Ω	$\text{m}^2 \text{ kg s}^{-3} \text{ A}^{-2}$	V A^{-1}	
Cantidad de electricidad	Q	coulomb	C	A s		
Actividad de un radionucléido	A	becquerel	Bq	s^{-1}		$1 \text{ Ci} = 37 \times 10^9 \text{ Bq} = 37 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$
Concentración molar	M	molaridad	mol/dm^3	10^3 mol m^{-3}		$1 \text{ mol}/\text{l} = 1 \text{ M} = 1 \text{ mol}/\text{dm}^3 = 10^3 \text{ mol m}^{-3}$

MÉTODOS GENERALES DE ANÁLISIS

10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE RESULTADOS DE ENSAYOS BIOLÓGICOS

CONTENIDOS

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Diseño general y precisión

2 ALEATORIZACIÓN E INDEPENDENCIA DE LOS TRATAMIENTOS INDIVIDUALES

3 ENSAYOS QUE DEPENDEN DE RESPUESTAS CUANTITATIVAS

3.1 Modelos estadísticos

- 3.1.1 Principios generales
- 3.1.2 Ensayos de rutina
- 3.1.3 Cálculos y restricciones

3.2 Modelo de líneas paralelas

- 3.2.1 Introducción
- 3.2.2 Diseño del ensayo
 - 3.2.2.1 Diseño completamente aleatorizado
 - 3.2.2.2 Diseño en bloques aleatorizados
 - 3.2.2.3 Diseño cuadrado latino
 - 3.2.2.4 Diseño cruzado
- 3.2.3 Análisis de varianza
- 3.2.4 Criterios de validez
- 3.2.5 Estimación de la potencia y límites de confianza
- 3.2.6 Valores perdidos

3.3 Modelo de relación de pendientes

- 3.3.1 Introducción
- 3.3.2 Diseño del ensayo
- 3.3.3 Análisis de varianza
 - 3.3.3.1 Diseño ($hd + 1$)
 - 3.3.3.2 Diseño (hd)
- 3.3.4 Criterios de validez
- 3.3.5 Estimación de la potencia y límites de confianza
 - 3.3.5.1 Diseño ($hd + 1$)
 - 3.3.5.2 Diseño (hd)

4 ENSAYOS QUE DEPENDEN DE RESPUESTAS CUANTALES

4.1 Introducción

4.2 Método de probitos

- 4.2.1 Tabulación de resultados
- 4.2.2 Criterios de validez

4.2.3 Estimación de la potencia y límites de confianza

4.2.4 Ensayos no válidos

4.3 Método de logitos

4.4 Otras formas de la curva

4.5 Dosis mediana efectiva

5 EJEMPLOS

5.1 Modelo de líneas paralelas

5.1.1 Ensayo múltiple de tres dosis con diseño completamente aleatorizado

5.1.2 Ensayo múltiple de cinco dosis con diseño completamente aleatorizado

5.1.3 Ensayo de dos dosis con diseño de cuadrado latino y sin replicación

5.2 Modelo de relación de pendientes

5.2.1 Ensayo completamente aleatorizado con diseño (1,3,3)

5.2.2 Ensayo completamente aleatorizado con diseño (0,4,4,4)

6 COMBINACIÓN DE RESULTADOS DE ENSAYOS

6.1 Introducción

6.2 Combinación ponderada de resultados de ensayos

6.2.1 Cálculo de los coeficientes de ponderación

6.2.2 Homogeneidad de las estimaciones de potencia

6.2.3 Cálculo de la media ponderada y límites de confianza

6.2.4 Media ponderada y límites de confianza basados en la variación intra e inter ensayo

6.3 Combinación no ponderada de resultados de ensayos

6.4 Ejemplo de potencia media ponderada y límites de confianza de ensayos de líneas paralelas

6.5 Ejemplo de potencia media ponderada y límites de confianza de ensayos de relación de pendientes con igual potencia supuesta

7 TABLA

7.1 Distribución F

7.2 Distribución t

7.3 Distribución χ^2

7.4 Distribución Φ

8 GLOSARIO DE SIMBOLOS

1 INTRODUCCIÓN

Este capítulo proporciona una guía para el diseño de los ensayos biológicos especificados en la Farmacopea Argentina (FA) y para el análisis de sus resultados. Puede ser empleado por personas cuya especialidad no es la estadística pero tienen la responsabilidad del análisis e interpretación de resultados de estos ensayos a menudo sin la ayuda y consejo de un estadístico. Los métodos de cálculo descriptos en el presente capítulo no son obligatorios para analizar los ensayos biológicos que constituyen en sí mismos una parte obligatoria de la FA. Pueden usarse métodos alternativos siempre que no sean menos confiables que los descriptos en este documento. Existe una gran variedad de programas de computación disponibles y pueden ser útiles dependiendo de la disponibilidad y de la habilidad del analista.

Se debería asegurar el asesoramiento de un experto en estadística cuando: la investigación o desarrollo de nuevos productos requiera un adecuado diseño y un análisis estadístico específico; cuando se requiera analizar amplias curvas dosis-respuesta no lineales, por ejemplo en inmunoensayos; o cuando no se puedan cumplimentar las restricciones impuestas al diseño en este capítulo, por ejemplo igual número de dosis igualmente espaciadas.

1.1 Diseño general y precisión

Se describen métodos biológicos para la valoración de ciertas sustancias y preparaciones cuya potencia no puede determinarse adecuadamente mediante análisis químicos o físicos. El principio aplicado, siempre que sea posible a lo largo de estos ensayos, es el de comparación con una preparación estándar de forma que se determina qué cantidad de la sustancia, que se va a examinar, produce el mismo efecto biológico que una cantidad dada, la *Unidad*, de la preparación estándar. Es una condición esencial de dichos métodos biológicos, que los ensayos sobre la preparación estándar y sobre la sustancia a examinar se realicen al mismo tiempo y bajo condiciones tan idénticas como sea posible. Para algunos ensayos (por ejemplo determinación de título de un virus) la potencia de la muestra no se expresa relativa a un estándar.

Cualquier estimación de potencia obtenida a partir de un ensayo biológico está sometida a un error aleatorio debido a la variabilidad inherente de las respuestas biológicas y los cálculos de errores deben realizarse, si es posible, a partir de los resultados de cada ensayo incluso cuando se usa el método oficial. Por lo tanto, a continuación se describen métodos para el diseño de ensayos y el cálculo de sus errores. En cualquier caso antes de adoptar un método estadístico deben realizarse ensayos preliminares, en cantidad suficiente, para descubrir la aplicabilidad de este método. El intervalo de confianza para potencias dadas es una indicación de la precisión con la cual la potencia ha sido estimada en el ensayo. Se calcula teniendo en cuenta el diseño experimental y el tamaño de la muestra. En ensayos biológicos normalmente se escogen límites de confianza del 95 por ciento. Se usan métodos matemáticos para calcular estos límites de forma que se justifique la expectativa de que hay una probabilidad (confianza) del 95 por ciento de que estos límites incluyan la verdadera potencia.

Los límites de confianza de la potencia constituyen un indicador de la precisión con la que se ha calculado la potencia en el ensayo, que esta precisión sea aceptable para la FA depende de los requisitos establecidos en la monografía de la preparación.

Los términos “*media*” y “*desviación estándar*” se usan en este documento según se definen en los libros de texto de estadística actuales.

Los términos “*potencia declarada*”, “*potencia asignada*”, “*potencia asumida*”, “*relación de potencias*” y “*potencia estimada*” se usan en esta sección para indicar los siguientes conceptos:

- *potencia declarada*: en el caso de un producto formulado es un valor nominal asignado a partir del conocimiento de la potencia de la materia prima; en el caso de una materia prima es la potencia estimada por el fabricante.

- *potencia asignada*: es la potencia de una preparación estándar.

- *potencia asumida*: es la potencia de la preparación que se va a examinar y que forma la base del cálculo de las dosis que podrían ser equipotentes con las dosis que se van a usar de la preparación estándar.

- *relación de potencias de una preparación desconocida*: es la relación de dosis equipotentes de la preparación estándar y de la preparación desconocida bajo las condiciones del ensayo.

- *potencia estimada*: es la potencia calculada a partir de los datos del ensayo.

La *Sección 8. Glosario de símbolos* es una tabla de los usos más importantes de símbolos a lo largo de este capítulo. Cuando el texto hace referencia a símbolos no mostrados en esta sección o usa un símbolo para designar un concepto diferente, éste se define en esa parte del texto.

2 ALEATORIZACIÓN E INDEPENDENCIA DE LOS TRATAMIENTOS INDIVIDUALES

La asignación de los distintos tratamientos a diferentes unidades experimentales (animales, tubos, etc.) debe realizarse mediante algunos procesos estrictamente aleatorios. Cualquier otra elección de condiciones experimentales que no haya sido permitida deliberadamente en el diseño experimental también debe hacerse al azar. Son ejemplos la elección de las posiciones de las jaulas en un laboratorio y el orden en el que se administran los tratamientos. En particular, un grupo de animales que recibe la misma dosis de cualquier preparación no debe tratarse conjuntamente (al mismo tiempo o en la misma posición) a menos que haya una fuerte evidencia de que la fuente relevante de variación (por ejemplo, entre tiempos o entre posiciones) es despreciable. Pueden realizarse asignaciones aleatorias a partir de tablas estándar de números aleatorios de muestreo que normalmente van acompañados de instrucciones de uso. Cualquiera que sea el método empleado, el analista debe tener cuidado de usar series diferentes de números aleatorios para los diferentes ensayos.

Las preparaciones asignadas a cada unidad experimental deberían ser tan independientes como sea posible. Dentro de cada grupo experimental, las diluciones realizadas para las dosis asignadas a cada tratamiento no deben ser simplemente divisiones de la misma dosis sino que deben prepararse individualmente. Sin esta precaución indispensable, la variabilidad inherente a la preparación no estará completamente representada en la varianza del error experimental. El resultado será una subestimación del error residual que conduce a:

1) un aumento no justificado en la rigurosidad de las pruebas para el análisis de varianza (ver en la *Sección 3: Análisis de varianza y Criterios de validez*).

2) una subestimación de los límites de confianza verdaderos del ensayo, los cuales, como se muestra en la *Sección 3: Estimación de la potencia y límites de confianza*, se calculan a partir de la estimación de s^2 del cuadrado medio del error residual.

3 ENSAYOS QUE DEPENDEN DE RESPUESTAS CUANTITATIVAS

3.1 Modelos Estadísticos

3.1.1 Principios generales

Los ensayos biológicos incluidos en la FA se han concebido como “ensayos de dilución”, lo que significa que se supone que la preparación desconocida a ensayar contiene el mismo principio activo que la preparación estándar pero en una proporción diferente de componentes activos e inertes. En tal caso la preparación desconocida puede obtenerse, en teoría, a partir de la preparación estándar por dilución con componentes inertes.

Para comprobar si un ensayo en particular se comporta como un ensayo de dilución es necesario comparar la relación dosis-respuesta de estándar y desconocido. Si la relación difiere significativamente el ensayo es “no válido”. Diferencias significativas en la relación dosis-respuesta de estándar y desconocido puede significar que una de las preparaciones contiene, además del principio activo, otro componente no inerte que puede influenciar la respuesta. Para hacer evidente el efecto de dilución, en el modelo teórico, es útil transformar la relación dosis-respuesta en una función lineal en el rango más amplio de dosis posible.

Para los ensayos biológicos descritos, son de interés dos modelos estadísticos: el *modelo de líneas paralelas* y el *modelo de relación de pendientes*.

La aplicación de uno u otro depende del cumplimiento de las siguientes condiciones:

- 1) los diferentes tratamientos se han asignado al azar a las unidades experimentales;
- 2) las respuestas a cada tratamiento se distribuyen normalmente;
- 3) la desviación estándar de las respuestas dentro de cada grupo de tratamiento, para la preparación estándar y desconocido, no difiere significativamente una de otra.

Cuando un ensayo está en etapa de desarrollo el analista tiene que cerciorarse que los datos recolectados de muchos ensayos satisfacen estas condiciones teóricas.

- La condición 1 puede cumplirse usando eficazmente la *Sección 2*.

- La condición 2 es una condición que casi siempre se cumple en la práctica. Desviaciones pequeñas de esta suposición no introducen diferencias serias en el análisis siempre y cuando se incluyan varias réplicas por tratamientos. Cuando se sospechen desviaciones de la distribución normal en una serie de muestras pequeñas puede usarse la *Prueba de Shapiro - Wilk para normalidad de distribución*. Wilk, M.B. y Shapiro, S.S. (1968). The joint assessment of normality of several independent samples, *Technometrics* 10,825-839.

- La condición 3 puede ser probada con un ensayo para homogeneidad de la varianza (*prueba de Bartlett, prueba de Cochran*) Bartlett, M.S(1937). Properties of sufficiency and statistical tests, *Proc. Roy. Soc. London, Series A* 160, 280-282. Cochran, W.G (1951). Testing a linear relation among variances, *Biometrics* 7, 17-32.

Cuando el analista sospecha que no se cumplen las condiciones 2 y/o 3, una transformación de la respuesta “y” a $\ln y$, o a \sqrt{y} o a y^2 puede conducir a un mejor cumplimiento de estas condiciones. Deberán consultarse libros de texto de estadística para otras transformaciones.

- La transformación logarítmica de “y” en $\ln y$ puede ser útil cuando la homogeneidad de varianzas no es satisfactoria. También puede mejorar la normalidad si la distribución tiene asimetría a la derecha.
- La transformación de “y” en \sqrt{y} es útil cuando las observaciones siguen una distribución Poisson, es decir cuando se obtienen por conteo.
- La transformación de “y” en y^2 puede ser útil si, por ejemplo, la dosis parece ser más proporcional al área de una zona de inhibición que a la medida del diámetro de esa zona.

El analista debe decidir sobre el tipo de transformación adecuada para cada tipo de ensayo biológico cuando éste se está poniendo a punto en su laboratorio. Cuando las condiciones 2 y/o 3 parecen no cumplirse durante un ensayo rutinario de este tipo, el analista no debe adoptar otra transformación a menos que esté convencido de que este incumplimiento de los requisitos no es casual, sino que es debido a un cambio sistemático de las condiciones experimentales, en este caso debe repetirse el ensayo preliminar antes de adoptar una nueva transformación para los ensayos rutinarios.

Una categoría distinta la forman los ensayos en los que no puede medirse la respuesta en cada una de las unidades experimentales, sino que solamente puede contarse la fracción de unidades que responden a cada tratamiento. Esta categoría se trata en la *Sección 4*.

3.1.2 Ensayos de rutina

Cuando los ensayos se hacen de forma rutinaria, es raro que se cumplan de forma sistemática las condiciones 1 a 3 debido a que el número limitado de observaciones por ensayo probablemente tenga influencia en la sensibilidad del análisis estadístico. Afortunadamente, los estadísticos han demostrado que, en ensayos balanceados simétricamente, las desviaciones pequeñas en la homogeneidad de varianza y en la normalidad no afectan de forma grave los resultados del ensayo. La aplicación de los modelos estadísticos sólo necesita cuestionarse si una serie de ensayos muestran una validez dudosa, entonces puede ser necesario realizar nuevas series de investigaciones preliminares como se discute en la *Sección 3: Principios generales*.

Otras dos condiciones necesarias dependen del modelo estadístico a usar:

A - Para modelo de líneas paralelas (ver *Figura 3.2.1.-I*)

4A - La relación entre el logaritmo de la dosis y la respuesta puede representarse por una línea recta en el intervalo de dosis usadas.

5A - Para cualquier preparación desconocida en el ensayo, la línea recta es paralela a la del estándar.

B - Para modelo de relación de pendientes (ver *Figura 3.3.1.-I*)

4B - La relación entre la dosis y la respuesta puede representarse por una línea recta, para cada preparación, en el intervalo de dosis usadas.

5B - Para cualquier preparación desconocida en el ensayo la línea recta interseca, al eje y, a la dosis cero en el mismo punto que la línea recta de la preparación estándar (es decir, la función respuesta, de todas las preparaciones analizadas en el ensayo, tienen que tener el mismo punto de intersección, en el eje y, que la función respuesta del estándar).

Las condiciones 4A y 4B sólo se pueden verificar en los ensayos en los que se hayan analizado al menos tres diluciones de cada preparación. El empleo de un ensayo con menos diluciones puede estar justificado cuando la experiencia haya demostrado que la linealidad y el paralelismo o igual intersección se cumplen regularmente.

Después de recolectar los datos y antes de calcular la potencia relativa de cada preparación se debe realizar un análisis de varianza con la finalidad de comprobar el cumplimiento de las condiciones 4A y 5A o 4B y 5B. Para esto, el total de las sumas de cuadrados se subdivide en cierto número de sumas de cuadrados correspondientes a cada una de las condiciones que se deben cumplir. La suma de cuadrados remanente representa el error experimental residual con la cual la ausencia o existencia de fuente de variación relevante se pueden comparar mediante una serie de valores de razones *F*.

Cuando se ha establecido la validez, la potencia de cada preparación desconocida con respecto al estándar puede calcularse y expresarse como una relación de potencias o convertirse en alguna unidad relevante en la preparación bajo ensayo, por ejemplo, una unidad internacional. También pueden estimarse los límites de confianza a partir de cada serie de datos del ensayo.

Si no se cumple alguna de las cinco condiciones (1, 2, 3, 4A y 5A o 1, 2, 3, 4B y 5B) los métodos de cálculo descriptos aquí no son válidos y debe realizarse un estudio especial del diseño del ensayo.

El analista no debería adoptar otra transformación a menos que haya evidenciado que el no cumplimiento de los requisitos no es accidental sino debido a un cambio o variación sistemática de las condiciones experimentales. En este caso se debe repetir el ensayo descrito en la *Sección 3.3.1* antes de adoptar una nueva transformación en los ensayos de rutina.

En ensayos de rutina desarrollados para comparar preparaciones similares un número excesivo de ensayos no válidos, debido a ausencia de paralelismo o de linealidad, denota probablemente diseños con replicaciones inadecuadas. Normalmente esta falta de adecuación se debe a un reconocimiento incompleto de todas las fuentes de variabilidad que afectan al ensayo, lo cual puede producir una subestimación del error residual que conduciría a razones F grandes.

No siempre es posible tener en cuenta la totalidad de las posibles fuentes de variación dentro de un ensayo simple (por ejemplo, variaciones día a día). En un caso así, los intervalos de confianza de ensayos repetidos sobre la misma muestra pueden no superponerse satisfactoriamente y se debe poner especial cuidado en la interpretación de los intervalos de confianza individuales. Para obtener una estimación más confiable del intervalo de confianza puede ser necesario desarrollar varios ensayos independientes y combinar éstos en una única potencia estimada y un intervalo de confianza (ver *Sección 6*).

Con la finalidad de controlar la calidad de los ensayos de rutina es recomendable guardar copia de los valores estimados de la pendiente de regresión y del valor estimado del error residual en las cartas control.

- Un error residual excepcionalmente alto puede indicar algún problema de tipo técnico. Éste debería ser investigado, y si se puede evidenciar algún error analítico en el ensayo, debería ser repetido. Un error residual inusualmente alto puede indicar la presencia de un valor atípico ocasional o de una observación aberrante. Se rechaza una respuesta que es cuestionable debido a una falla en el cumplimiento del procedimiento durante el desarrollo del ensayo. Si se descubre un valor aberrante después de que las respuestas ya han sido registradas, que puede ser adjudicable a irregularidades del ensayo, su omisión puede estar justificada. La exclusión arbitraria o el mantenimiento de una respuesta aparentemente atípica puede ser una fuente grave de sesgo. En general el rechazo de observaciones solamente porque un ensayo para “valores atípicos” sea significativo, es desaconsejable.

- Un error residual excepcionalmente bajo puede ocurrir alguna vez y ser causa de que los valores de la razón F excedan los valores críticos. En tal caso puede estar justificado reemplazar el error residual estimado, a partir del ensayo individual, por un error residual medio obtenido de datos históricos registrados en las cartas control.

3.1.3 Cálculos y restricciones

Conforme a los principios generales de buen diseño, se imponen normalmente las tres siguientes restricciones en el diseño del ensayo. Éstas presentan ventajas tanto para facilitar el cómputo como para mejorar la precisión.

- a) cada preparación en el ensayo debe ser contrastada con el mismo número de dosis.
- b) en el modelo de líneas paralelas, el cociente entre las dosis adyacentes debe ser constante para todos los tratamientos en el ensayo (progresión geométrica); en el modelo de relación de pendientes, el intervalo entre dosis adyacentes debe ser constante para todos los tratamientos en el ensayo (progresión aritmética).
- c) debe haber un número igual de unidades experimentales para cada tratamiento.

Si se utiliza un diseño que cumple estas restricciones los cálculos son sencillos. Las fórmulas se encuentran en las *Secciones 3.2* y *3.3*. Se recomienda el uso de aplicaciones informáticas (software) que hayan sido desarrolladas para esta finalidad particular. Existen varios programas que pueden fácilmente manejar todos estos diseños de ensayo descritos en las monografías correspondientes. No todos los programas emplean las mismas fórmulas y algoritmos, pero deben llevarnos a los mismos resultados.

Los diseños de ensayo que no cumplan las restricciones señaladas arriba pueden ser igualmente posibles y correctos, pero las fórmulas que precisan son demasiado complicadas para ser descriptas en este texto.

Las formulas para los diseños restringidos dadas en el texto pueden ser empleadas por ejemplo para crear programas *ad hoc* en una planilla de cálculos. Se pueden emplear los ejemplos de la *Sección 5* para comprobar si tales programas dan resultados correctos.

3.2 Modelo de líneas paralelas

3.2.1 Introducción

En la *Figura 3.2.1.-I* se representa el modelo de líneas paralelas. El logaritmo de las dosis se representa en el eje de abscisas y las respuestas en el eje de ordenadas. Las respuestas individuales a cada tratamiento se señalan con puntos negros. Las dos líneas son las relaciones calculadas $\ln(\text{dosis})$ -respuesta para el estándar y para la preparación desconocida.

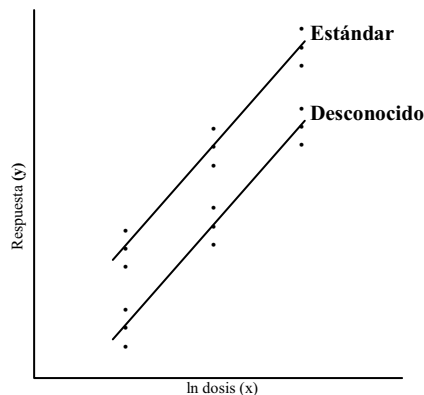


Figura 3.2.1.-I.-Modelo de líneas paralelas para un ensayo 3 + 3.

[NOTA: a lo largo del texto se utilizará el logaritmo neperiano (\ln). Donde aparezca el término “antilogaritmo” significa la e^x . Sin embargo, los Briggs o logaritmos “comunes” (\log o \log_{10}) pueden ser igualmente empleados. En este caso el antilogaritmo correspondiente es 10^x].

Para que un ensayo sea satisfactorio la potencia asumida de la preparación desconocida debe estar próxima a la verdadera potencia. Sobre el supuesto de esta potencia asumida y la potencia asignada del estándar se preparan dosis equipotentes (si es posible), esto es, que las dosis correspondientes del estándar y del desconocido se espera que den la misma respuesta. Si no se dispone de información sobre la potencia asumida, se realizan ensayos preliminares sobre un amplio rango de dosis para determinar el intervalo en el que la curva es lineal.

Cuanto más próxima esté la potencia estimada de una preparación desconocida a la potencia asumida tanto más próximas estarán las dos rectas, para lo cual deberán dar igual respuesta a igual dosis. La distancia horizontal entre las líneas representa la exactitud de la potencia estimada con respecto a la potencia asumida. A mayor distancia entre las dos líneas habrá menor exactitud en la asignación de la potencia asumida. Si la línea correspondiente a la preparación desconocida está situada a la derecha de la línea del estándar, la potencia asumida estará sobrestimada y los cálculos indicarán una potencia estimada inferior a la potencia asumida. De la misma manera, si la línea de la preparación desconocida está situada a la izquierda de la línea del estándar, la potencia asumida estará subestimada y los cálculos indicarán una potencia estimada superior a la potencia asumida.

3.2.2 *Diseño del ensayo*

Las siguientes consideraciones serán de utilidad para la optimización de la precisión del diseño del ensayo.

- 1) El cociente entre la pendiente y el error residual deberá ser tan grande como sea posible.
- 2) El intervalo de dosis deberá ser tan grande como sea posible.
- 3) Las líneas deberán estar tan estrechamente próximas como sea posible, es decir la potencia asumida debe ser una buena estimación de la verdadera potencia.

La distribución de las unidades experimentales (animales, tubos de ensayo, etc.) a los diferentes tratamientos puede hacerse de varias formas.

3.2.2.1 *Diseño completamente aleatorizado*

Si la totalidad de las unidades experimentales (animales, tubos, etc.) parece ser razonablemente homogénea sin indicación alguna de que la variabilidad de la respuesta sea menor dentro de ciertos subgrupos reconocibles, la asignación de las unidades a los diferentes tratamientos debe hacerse aleatoriamente, por ejemplo, mediante el uso de una tabla de permutaciones aleatorias.

Si es probable que las unidades en subgrupos, tales como las posiciones físicas o los días experimentales, sean más homogéneas que la totalidad de las unidades la precisión del ensayo puede aumentarse mediante la introducción de una o más restricciones en el diseño. Una cuidadosa distribución de las unidades, a partir de las restricciones, permite eliminar fuentes irrelevantes de variación.

3.2.2.2 Diseño en bloques aleatorizados

En este diseño es posible segregar una fuente identificable de variación tal como, la variación de sensibilidad entre camadas de animales experimentales o la variación entre placas de Petri en un ensayo microbiológico por difusión. El diseño requiere que todos los tratamientos se apliquen el mismo número de veces en cada bloque (camada o placa de Petri) y es adecuado solamente cuando el bloque es lo suficientemente grande como para aplicar todos los tratamientos.

Se proporcionan las fórmulas para un diseño en bloques aleatorios en este capítulo y en 770. *Valoraciones microbiológicas de antibióticos*.

3.2.2.3 Diseño en cuadrado latino

Este diseño es apropiado cuando la respuesta puede verse afectada por dos fuentes diferentes de variación, cada una de las cuales puede asumir k niveles o posiciones diferentes. Por ejemplo, en una prueba en placa de un antibiótico, los tratamientos pueden disponerse en una serie $k \times k$ sobre una placa grande, realizándose cada tratamiento una vez en cada fila y en cada columna. El diseño es adecuado cuando el número de filas, el número de columnas y el número de tratamientos son iguales.

Las respuestas se registran en un formato cuadrado conocido como cuadrado latino. Las variaciones debidas a las diferencias de las respuestas entre las k filas y las k columnas pueden separarse, reduciendo por tanto el error. *Ejemplo 5-1-3*.

Cualquiera que sea el diseño usado, la asignación de unidades experimentales a los bloques debe hacerse aleatoriamente y las unidades deben mantenerse bajo condiciones uniformes tanto antes como durante el experimento.

3.2.2.4 Diseño cruzado

Este diseño es útil cuando el experimento puede subdividirse en bloques, pero es posible aplicar solamente dos tratamientos a cada bloque, por ejemplo, un bloque puede ser una sola unidad que puede probarse en dos ocasiones. El diseño pretende aumentar la precisión eliminando los efectos de las diferencias entre las unidades mientras que se equilibra el efecto de cualquier diferencia entre los niveles generales de respuesta en las dos etapas del ensayo.

Si se prueban dos dosis de un estándar y de una preparación desconocida esto se conoce como un diseño cruzado doble, mientras que un diseño que incorpora tres dosis de cada preparación es un diseño cruzado triple.

El experimento se divide en dos partes separadas por un intervalo de tiempo adecuado. Las unidades se dividen en cuatro (o seis) grupos y cada grupo recibe uno de los cuatro (o seis) tratamientos en la primera parte de la prueba. Las unidades que reciben una preparación en la primera parte de la prueba reciben la otra preparación en la segunda parte y las unidades que reciben dosis bajas en una parte de la prueba reciben dosis altas en la otra. La disposición de las dosis se muestra en la *Tabla 3.2.2.4.-I*.

Tabla 3.2.2.4. I - Disposición de dosis en un diseño cruzado

<i>Grupo de unidades</i>	<i>Cruzado doble</i>		<i>Cruzado triple</i>	
	<i>Tiempo I</i>	<i>Tiempo II</i>	<i>Tiempo I</i>	<i>Tiempo II</i>
1	S_1	T_2	S_1	T_3
2	S_2	T_1	S_2	T_2
3	T_1	S_2	S_3	T_1
4	T_2	S_1	T_1	S_3
5	-	-	T_2	S_2
6	-	-	T_3	S_1

Ver ejemplo en *Statistical Methods in Biological Assay*; B. J. Finney 2da ed. 1964, pag. 265 a 299.

3.2.3 *Análisis de varianza*

Esta sección proporciona las fórmulas necesarias para llevar a cabo el análisis de varianza y serán comprendidas más fácilmente haciendo referencia a los ejemplos realizados en la *Sección 5.1*. También debe hacerse referencia al glosario de símbolos (*Sección 8*).

Las fórmulas son apropiadas para análisis simétricos en los que una o más preparaciones (T , U , etc.) que van a ser examinadas, se comparan con una preparación estándar (S). Se enfatiza que las fórmulas sólo pueden emplearse si las dosis están igualmente espaciadas, si se aplican igual número de tratamientos por preparación y si

cada tratamiento es aplicado un número igual de veces. No debe procederse al empleo de las fórmulas en cualquier otra situación.

Aparte de algunos ajustes del término debido al error el análisis básico de datos procedentes de un ensayo es el mismo para diseños completamente aleatorizados, en bloque aleatorizado y en cuadrado latino. Las fórmulas para ensayos cruzados, no se ajustan enteramente a este esquema.

Habiendo considerado los puntos discutidos en la *Sección 3.1* y habiendo transformado las respuestas, si fuera necesario, debe hacerse la media de los valores para cada tratamiento y cada preparación como se muestra en la *Tabla 3.2.3.-I*. También deben calcularse los contrastes lineales los cuales se relacionan con las pendientes de las líneas (ln dosis-respuesta). En la *Tabla 3.2.3.-II* se muestran tres fórmulas adicionales que son necesarias para la realización del análisis de varianza.

Tabla 3.2.3.-I. Fórmulas aplicables al modelo de líneas paralelas con d dosis de cada preparación

	<i>Estándar</i>	<i>Preparación 1 (T)</i>	<i>Preparación 2 (U, etc.)</i>
<i>Respuesta media de la dosis menor</i>	S_1	T_1	U_1
<i>Respuesta media de la segunda dosis</i>	S_2	T_2	U_2
...
<i>Respuesta media de la dosis mayor</i>	S_d	T_d	U_d
<i>Total de la preparación</i>	$P_S = S_1 + S_2 + \dots + S_d$	$P_T = T_1 + T_2 + \dots + T_d$	$P_U = U_1 + U_2 + \dots + U_d$
<i>Contraste lineal</i>	$L_S = 1S_1 + 2S_2 + \dots + dS_d - \frac{1}{2}(d+1)P_S$	$L_T = 1T_1 + 2T_2 + \dots + dT_d - \frac{1}{2}(d+1)P_T$	$L_U = 1U_1 + 2U_2 + \dots + dU_d - \frac{1}{2}(d+1)P_U$

Tabla 3.2.3.-II. Fórmulas adicionales para la construcción del análisis de la varianza.

$H_P = \frac{n}{d}$	$H_L = \frac{12n}{d^3 - d}$	$K = \frac{n(P_S + P_T + \dots)^2}{hd}$
---------------------	-----------------------------	---

Tabla 3.2.3.-III. Fórmulas para el cálculo de Suma de Cuadrados y Grados de libertad.

<i>Fuentes de Variación</i>	<i>Grados de Libertad (gl)</i>	<i>Suma de Cuadrados (SC)</i>
<i>Preparaciones</i>	$h - 1$	$SC_{prep} = H_P(P_S^2 + P_T^2 + \dots) - K$
<i>Regresión lineal</i>	1	$SC_{reg} = \frac{1}{h} H_L(L_S + L_T + \dots)^2$
<i>Desviación del paralelismo</i>	$h - 1$	$SC_{par} = H_L(L_S^2 + L_T^2 + \dots) - SC_{reg}$
<i>Desviación de la linealidad</i>	$h(d - 2)$	$SC_{lin} = SC_{trat} - SC_{prep} - SC_{reg} - SC_{par}$
<i>Tratamientos</i>	$hd - 1$	$SC_{trat} = n(S_1^2 + \dots + S_d^2 + T_1^2 + \dots + T_d^2 + \dots) - K$

^(*) No se calcula para ensayos con dos dosis.

Tabla 3.2.3.-IV. Estimación del Error Residual

<i>Fuentes de Variación</i>	<i>Grados de Libertad (gl)</i>	<i>Suma de Cuadrados (SC)</i>
<i>Bloques (Filas)</i> ^(*)	$n - 1$	$SC_{bloques} = hd(R_1^2 + \dots + R_n^2) - K$
<i>Columnas</i> ^(**)	$n - 1$	$SC_{col} = hd(C_1^2 + \dots + C_n^2) - K$
<i>Error Residual</i> ^(***)	<i>Completamente Aleatorizado</i>	$SC_{res} = SC_{total} - SC_{trat}$
	<i>Aleatorizado en bloques</i>	$SC_{res} = SC_{total} - SC_{trat} - SC_{bloques}$
	<i>Cuadrado latino</i>	$SC_{res} = SC_{total} - SC_{trat} - SC_{bloques} - SC_{col}$
<i>Total</i>	$nhd - 1$	$SC_{total} = \sum (y - \bar{y})^2$

(*) No se calcula para el diseño completamente aleatorizado.

(**) Sólo se calcula para el diseño Cuadrado Latino.

(***) Depende del tipo de diseño.

La variación total de la respuesta causada por los diferentes tratamientos se subdivide ahora, como se muestra en la *Tabla 3.2.3.-III*, en las sumas de cuadrados obtenidos a partir de los valores de las *Tablas 3.2.3.-I* y *3.2.3.-II*. La suma de cuadrados debida a la no linealidad se puede calcular únicamente si se incluyen por lo menos tres dosis por preparación en el ensayo.

El error residual del ensayo se obtiene restando las variaciones de las fuentes de variación, permitidas para el diseño, de la variación total de la respuesta (*Tabla 3.2.3.-IV*). En esta tabla \bar{y} representa la media de todas las respuestas registradas en el ensayo. Se ha de hacer notar que para el cuadrado latino el número de respuestas replicadas (n) es igual al número de filas, columnas o tratamientos (dh).

$$CM_{\text{fte.de variación}} = \frac{SC_{\text{fte.de variación}}}{gl_{\text{fte.de variación}}}$$

El análisis de varianza se completa ahora como sigue. Cada suma de cuadrados se divide por el correspondiente número de grados de libertad para dar los cuadrados medios (CM).

El F calculado es el cociente entre el cuadrado medio de cada fuente de variación y el cuadrado medio del error residual (s^2). La significación de esos valores (conocida como razón F) se evalúa mediante el empleo de la *Tabla 7.1*.

$$F_{\text{calculado}} = \frac{CM_{\text{fte.de variación}}}{CM_{\text{error}}}$$

3.2.4 Criterios de validez

Se dice que los resultados de un ensayo son “estadísticamente válidos” si el resultado del análisis de varianza es el siguiente:

- 1) El término regresión lineal es **significativo**, es decir, la probabilidad calculada es inferior a 0.01 ($p < 0,01$). Si este criterio no se cumple, se debe considerar que el ensayo es **no válido**.
- 2) El término de no paralelismo es **no significativo**, es decir, la probabilidad calculada no es inferior a 0,05 ($p > 0,05$). Esto indica que se satisface la condición 5A, *Sección 3.1*.
- 3) El término de no-linealidad es **no significativo**, es decir, la probabilidad calculada no es inferior a 0,05 ($p > 0,05$). Esto indica que se satisface la condición 4A, *Sección 3.1*.

Una desviación significativa del paralelismo en un ensayo múltiple (varias preparaciones simultáneamente) puede ser debida a la inclusión en el diseño del ensayo de una preparación a examinar que da una línea ln dosis-respuesta con una pendiente diferente de la de las otras preparaciones. En lugar de declarar no válido la totalidad del ensayo se puede decidir la eliminación de todos los datos relativos a esa preparación y retomar el análisis desde el inicio.

Cuando se establece la validez estadística, las potencias y los límites de confianza se pueden estimar por los métodos descriptos en la sección siguiente.

3.2.5. Estimación de la Potencia y Límites de Confianza

I es el ln del cociente entre dosis adyacentes de cualquier preparación, se obtiene a partir de:

$$I = \ln \frac{(\text{dosis } 2)}{(\text{dosis } 1)} = \ln \text{dosis } 2 - \ln \text{dosis } 1 \quad (3.2.5.-1)$$

La pendiente común b , para ensayos con d dosis de cada preparación, se obtiene a partir de la fórmula

$$b = \frac{H_L(L_S + L_T + \dots)}{I n h} \quad (3.2.5.-2)$$

El logaritmo de la relación de potencia de una preparación desconocida, por ejemplo T , es M'_T

$$M'_T = \frac{P_T - P_s}{d b} \quad (3.2.5.-3)$$

La potencia estimada es una estimación puntual de la verdadera potencia y los límites de confianza pueden calcularse por la fórmula (3.2.5.-4)

$$\begin{matrix} M'_T \text{ sup} \\ M'_T \text{ inf} \end{matrix} = CM'_T \pm \sqrt{(C-1)(CM'^2_T + 2V)} \quad (3.2.5.-4)$$

Donde

$$C = \frac{SC_{reg}}{SC_{reg} - s^2 t^2} \quad (3.2.5.-5)$$

$$V = \frac{SC_{reg}}{b^2 d n} \quad (3.2.5.-6)$$

Los valores de t se obtienen a partir de la *Tabla 8.2* para $p = 0,05$ y grados de libertad igual a los del error residual.

La potencia estimada y los límites de confianza, asociados a ella, se calculan multiplicando los *antilogaritmos* de M'_T ; $M'_T \text{ superior}$ y $M'_T \text{ inferior}$ por la potencia supuesta A_T .

$$\text{Potencia estimada} = R_T = \text{antilog } M'_T \times A_T \quad (3.2.5.-7)$$

$$\text{Límite de confianza superior} = R_T \text{ sup} = \text{antilog } M'_T \text{ sup} \times A_T \quad (3.2.5.-8)$$

$$\text{Límite de confianza inferior} = R_T \text{ inf} = \text{antilog } M'_T \text{ inf} \times A_T \quad (3.2.5.-9)$$

Si las soluciones existentes no son equipotentes en base a potencias asumida y asignada es necesario un factor de corrección.

3.2.6 Valores perdidos

En un ensayo equilibrado, un accidente sin ninguna relación con los tratamientos aplicados puede llevar a la pérdida de una o más respuestas, por ejemplo debido a la muerte de un animal. Si se considera que el accidente no está relacionado de ninguna manera con la composición de la preparación administrada, los cálculos exactos pueden aún realizarse pero las fórmulas son necesariamente más complicadas y solamente se pueden dar dentro del marco de trabajo de los modelos lineales generales. No obstante, existe un método aproximado que mantiene la simplicidad del diseño equilibrado sustituyendo la respuesta perdida por un valor calculado. La pérdida de información se tiene en cuenta disminuyendo los grados de libertad de la suma total de cuadrados y para el error residual en una unidad y empleando una de las fórmulas proporcionadas más adelante para el valor perdido. Se debe tener en mente que éste es sólo un método aproximado y que debe ser preferido el método exacto.

Si se pierde más de una información se puede emplear la misma fórmula. El procedimiento consiste en hacer una estimación grosera para todos los valores perdidos excepto uno y emplear la propia fórmula apropiada para éste, empleando todos los valores restantes incluidas las estimaciones groseras. Incluir el valor calculado. Continuar de forma similar calculando un valor para la primera aproximación grosera. Después de calcular todos los valores perdidos de la misma manera se repite el ciclo completo desde el principio, empleando en cada cálculo el valor estimado o calculado más reciente para todas las respuestas a las que se está aplicando la fórmula. Se continúa hasta que dos ciclos consecutivos dan los mismos valores, normalmente la convergencia es rápida.

Siempre que el número de valores reemplazados sea pequeño con relación al número total de observaciones en el experimento completo (digamos inferior al 5 %), la aproximación implicada en este reemplazo y la reducción de grados de libertad por el número de valores perdidos así reemplazados es normalmente bastante satisfactoria. Sin embargo, el análisis debe ser interpretado con gran cuidado, especialmente si existe una preponderancia de valores perdidos en un tratamiento o bloque, y se debe consultar a un especialista en estadística si se encuentra alguna característica inusual.

Diseño completamente aleatorizado.

En un ensayo completamente aleatorizado, el valor perdido puede ser sustituido por la media aritmética de las otras respuestas al mismo tratamiento.

Diseño en bloques aleatorizados.

El valor perdido y' se obtiene aplicando la ecuación:

$$y' = \frac{n B' + k T' - G'}{(n-1)(k-1)} \quad (3.2.6.-I)$$

en la que B' es la suma de las respuestas del bloque que contiene el valor perdido, T' es el total del tratamiento correspondiente y G' es la suma de todas las respuestas registradas en el ensayo.

Diseño en cuadrado latino.

El valor perdido y' se obtiene a partir de:

$$y' = \frac{k(B'+C'+T') - 2G'}{(k-1)(k-2)} \quad (3.2.6.-II)$$

donde B' y C' son las sumas de las respuestas en la fila y columna que contiene el valor perdido. En este caso $k = n$.

Diseño cruzado.

Cuando accidentalmente se produce una pérdida de valores en un diseño cruzado, se debe consultar un libro de estadística (por ejemplo, *D. J. Finney*, ver *Sección 10*), ya que las fórmulas apropiadas dependen de las combinaciones particulares de tratamientos.

3.3 Modelo de relación de pendientes

3.3.1 Introducción

Este modelo es apropiado, por ejemplo, para algunos ensayos microbiológicos cuando la variable independiente es la concentración de un factor de crecimiento esencial por debajo de la concentración óptima del medio.

El modelo se ilustra en la *Figura 3.3.1.-I*

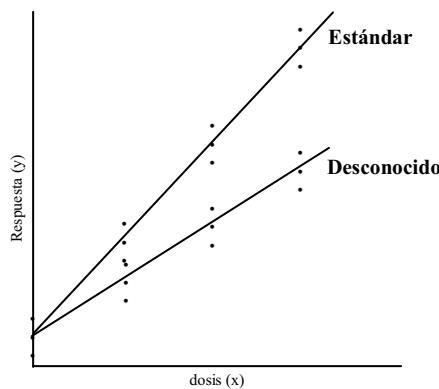


Figura 3.3.1.-I.-Modelo de relación de pendientes para un diseño $2 \times 3 + 1$.

Las dosis se representan en el eje de abscisas y las respuestas se representan en el eje de ordenadas. Las respuestas individuales a cada tratamiento se señalan con puntos negros. Las dos líneas son las relaciones dosis-respuesta calculadas para la preparación estándar y para la desconocida bajo el supuesto de que ambas se cortan en el cero de dosis. A diferencia del modelo de líneas paralelas, las dosis no se transforman a logaritmos.

Al igual que en el caso de un ensayo basado en el modelo de líneas paralelas, es importante que la potencia asumida esté cerca de la verdadera potencia y preparar diluciones equipotentes de las preparaciones desconocida y del estándar (si es posible). Cuanto más próxima esté la potencia asumida del desconocido a la verdadera potencia, más cerca estarán las dos líneas. La relación de las pendientes representa la “verdadera” potencia del desconocido, relativa a su potencia asumida. Si la pendiente de la preparación desconocida es mayor que la del estándar, la potencia ha sido subestimada y los cálculos indicarán una potencia estimada superior a la potencia asumida. De la misma manera, si la pendiente del desconocido es menor que la del estándar, la potencia ha sido sobrestimada y los cálculos indicarán una potencia estimada inferior a la potencia asumida.

En un ensayo todas las respuestas deben ser examinadas para que satisfagan las condiciones 1, 2 y 3 de la *Sección 3.1*. El análisis de varianza que ha de desarrollarse rutinariamente se describe en la *Sección 3.3.3*, por lo que el cumplimiento de las condiciones 4B y 5B de la *Sección 3.1* puede ser examinado.

3.3.2 Diseño del ensayo

El empleo del análisis estadístico presentado más adelante, impone las siguientes restricciones al ensayo:

- a) El estándar y las preparaciones a ensayar tiene que ser analizadas en el mismo número de diluciones igualmente espaciadas;
- b) Un grupo extra de unidades experimentales que no reciben tratamiento pueden ser examinadas (los blancos);
- c) Tiene que haber un número igual de unidades experimentales para cada tratamiento.

Como ya se señaló en la *Sección 3.1.3* los diseños de ensayo que no cumplen estas restricciones pueden ser posibles y correctos, pero los análisis estadísticos sencillos presentados aquí no son aplicables y ha de solicitarse el consejo de un experto o emplearse un programa apropiado.

Un diseño con dos dosis por preparación y un blanco, “diseño cero común ($h2 + 1$)” es normalmente preferido, ya que permite una mayor precisión juntamente con la posibilidad de revisar la validez dentro de las restricciones mencionadas arriba. Sin embargo, una relación lineal no puede ser siempre asumida como válida por debajo de dosis cero. Se puede adoptar, con una pequeña pérdida de precisión, un diseño sin blancos. En este caso se prefiere tres dosis por preparación, “diseño cero común ($h3$)”, al de dos dosis por preparación. Estas dosis son, así, dadas como sigue:

- 1) El estándar se da en una dosis alta, próxima, pero sin exceder la dosis máxima que da una respuesta media sobre el tramo recto de la línea dosis-respuesta.
- 2) Las otras dosis están uniformemente espaciadas entre la dosis más alta y la dosis cero.
- 3) Las preparaciones desconocidas se dan en las dosis correspondientes, basándose en la potencia asumida del material.

Puede emplearse un diseño completamente aleatorizado, un diseño en bloques aleatorizados o un diseño en cuadrado latino tal como se describe en la *Sección 3.2.2*. El empleo de cualquiera de estos diseños necesita un ajuste de la suma de cuadrados del error como se describe para el análisis basado en el modelo de rectas paralelas. Se describe más adelante el análisis de un ensayo de una o más preparaciones desconocidas frente a un estándar.

3.3.3 Análisis de varianza

3.3.3.1 Diseño ($hd + 1$)

Las respuestas se analizan como se describe en la *Sección 3.1* y si es necesario se transforman. Las respuestas son entonces promediadas sobre cada tratamiento y cada preparación como se indica en la *Tabla 3.3.3.1-I*. Adicionalmente se calcula la respuesta media de los blancos (B).

La suma de cuadrados en el análisis de varianza se calcula como se indica en las *Tablas 3.3.3.1-I a 3.3.3.1-III*. La suma de cuadrados debida a no linealidad puede ser calculada sólo si han sido incluidas al menos tres dosis de cada preparación en el ensayo. El error residual se obtiene restando las variaciones de las fuentes de variación contempladas en el diseño de la variación total de la respuesta (*Tabla 3.3.3.1-IV*).

El análisis de varianza se completa ahora como sigue. Cada suma de cuadrados se divide por el correspondiente número de grados de libertad para dar los cuadrados medios (CM).

$$CM_{fte.de\ variaci3n} = \frac{SC_{fte.de\ variaci3n}}{gl_{fte.de\ variaci3n}}$$

El F calculado es el cociente entre el cuadrado medio de cada fuente de variaci3n y el cuadrado medio del error residual (s^2). La significaci3n de esos valores (conocida como raz3n F) se evalúa mediante el empleo de la Tabla 7.1.

$$F_{calculado} = \frac{CM_{fte.de\ variaci3n}}{CM_{error}}$$

Tabla 3.3.3.1.-I.

F3rmulas aplicables al modelo de Relaci3n de pendientes con d dosis para cada preparaci3n y un blanco

	<i>Est3ndar</i>	<i>Preparaci3n 1 (T)</i>	<i>Preparaci3n 2 (U, etc.)</i>
<i>Respuesta media de la dosis menor</i>	S_1	T_1	U_1
<i>Respuesta media de la segunda dosis</i>	S_2	T_2	U_2
...
<i>Respuesta media de la dosis mayor</i>	S_d	T_d	U_d
<i>Total de la preparaci3n</i>	$P_S = S_1 + S_2 + \dots + S_d$	$P_T = T_1 + T_2 + \dots + T_d$	$P_U = U_1 + U_2 + \dots + U_d$
<i>Contraste lineal</i>	$L_S = 1S_1 + 2S_2 + \dots + dS_d$	$L_T = 1T_1 + 2T_2 + \dots + dT_d$	$L_U = 1U_1 + 2U_2 + \dots + dU_d$
<i>Valor de la intersecci3n</i>	$a_S = (4d + 2)P_S - 6L_S$	$a_T = (4d + 2)P_T - 6L_T$	$a_U = (4d + 2)P_U - 6L_U$
<i>Valor de la pendiente</i>	$b_S = 2L_S - (d + 1)P_S$	$b_T = 2L_T - (d + 1)P_T$	$b_U = 2L_U - (d + 1)P_U$
<i>Valor del tratamiento</i>	$G_S = S_1^2 + \dots + S_d^2$	$G_T = T_1^2 + \dots + T_d^2$	$G_U = U_1^2 + \dots + U_d^2$
<i>No linealidad (*)</i>	$J_S = G_S - \frac{P_S^2}{d} - \frac{3 b_S^2}{d^3 - d}$	$J_T = G_T - \frac{P_T^2}{d} - \frac{3 b_T^2}{d^3 - d}$	$J_U = G_U - \frac{P_U^2}{d} - \frac{3 b_U^2}{d^3 - d}$

(*) No calculado para ensayos de dos dosis

Tabla 3.3.3.1.-II. F3rmulas adicionales para la construcci3n del an3lisis de la varianza.

$H_B = \frac{nhd^2 - nhd}{hd^2 - hd + 4d + 2}$	$H_I = \frac{n}{4d^3 - 2d^2 - 2d}$	$a = \frac{a_S + a_T + \dots}{h(d^2 - d)}$	$K = \frac{n(B + P_S + P_T + \dots)^2}{hd + 1}$
--	------------------------------------	--	---

Tabla 3.3.3.1.-III. F3rmulas para el c3lculo de Suma de Cuadrados y Grados de libertad.

<i>Fuentes de Variaci3n</i>	<i>Grados de Libertad (gl)</i>	<i>Suma de Cuadrados (SC)</i>
<i>Regresi3n</i>	h	$SC_{reg} = SC_{trat} - SC_{blanco} - SC_{int} - SC_{lin}$
<i>Blancos</i>	1	$SC_{blancos} = H_B(B - a)^2$
<i>Intersecci3n</i>	$h - 1$	$SC_{int} = H_I((a_S^2 + a_T^2 + \dots) - h(d^2 - d)^2 a^2)$
<i>No linealidad (*)</i>	$h(d - 2)$	$SC_{lin} = n(J_S + J_T + \dots)$
<i>Tratamientos</i>	hd	$SC_{trat} = n(B^2 + G_S + G_T + \dots) - K$

(*) No calculado para ensayos de dos dosis

Tabla 3.3.3.1.-IV. Estimación del Error Residual

Fuentes de Variación	Grados de Libertad (g)	Suma de Cuadrados (SC)
Bloques (Filas) ^(*)	$n - 1$	$SC_{bloques} = hd (R_1^2 + \dots + R_n^2) - K$
Columnas ^(**)	$n - 1$	$SC_{col} = hd (C_1^2 + \dots + C_n^2) - K$
Error Residual ^(***)	Completamente Aleatorizado	$SC_{res} = SC_{total} - SC_{trat}$
	Aleatorizado en bloques	$SC_{res} = SC_{total} - SC_{trat} - SC_{bloques}$
	Cuadrado latino	$SC_{res} = SC_{total} - SC_{trat} - SC_{bloques} - SC_{col}$
Total	$nhd + n - 1$	$SC_{total} = \sum (y - \bar{y})^2$

(*) No se calcula para el diseño completamente aleatorizado.

(**) Sólo se calcula para el diseño Cuadrado Latino.

(***) Depende del tipo de diseño.

3.3.3.2 Diseño (hd)

Las fórmulas son básicamente las mismas que las empleadas para el diseño $(hd + 1)$, pero existen algunas pequeñas diferencias.

- B es descartado en la totalidad de las fórmulas.
- $K = \frac{n(P_s + P_T + \dots)^2}{hd}$
- SC_{blanco} se elimina del análisis de varianza.
- El número de grados de libertad para los tratamientos se transforma en $hd - 1$.
- El número de grados de libertad del error residual y la varianza total se calcula de la forma descrita para el modelo de líneas paralelas (ver *Tabla 3.2.3.-IV*)

La validez del ensayo, la potencia y el intervalo de confianza se determinan como se describe en las *Secciones 3.3.4* y *3.3.5*.

3.3.4 Criterios de validez

Se dice que los resultados del ensayo son “estadísticamente válidos” cuando el resultado del análisis de varianza es como sigue:

1) la variación debida a los blancos en los diseños $(hd + 1)$ es **no significativa**, es decir, la probabilidad calculada es no inferior a 0,05. Esto indica que la respuesta de los blancos no difiere significativamente del punto de intersección común y la relación lineal es válida hacia la dosis cero.

2) la variación debida a la intersección es **no significativa**, es decir, la probabilidad calculada es no inferior a 0,05. Esto indica que se satisface la condición 5B de la *Sección 3.1*.

3) en ensayos que incluyen al menos tres dosis por preparación, la variación debida a la no linealidad es **no significativa**, es decir, la probabilidad calculada es no inferior a 0,05. Esto indica que se satisface la condición 4B de la *Sección 3.1*.

Una variación significativa debida a los blancos indica que la hipótesis de linealidad es no válida cerca de la dosis cero. Si es probable que esto sea más sistemático que accidental, para el tipo de ensayo, el diseño hd es más apropiado. Cualquier respuesta a los blancos debe ser entonces no considerada.

Cuando estos ensayos indican que el ensayo es válido, se calcula la potencia con sus límites de confianza, como se describe en la *Sección 3.3.5*.

3.3.5 Estimación de la potencia y límites de confianza

3.3.5.1 Diseño $(hd + 1)$

La intersección común a' de las preparaciones se puede calcular a partir de

$$a' = \frac{(2d+1)B + (2d-3)ha}{h(2d-3) + 2d+1} \quad (3.3.5.1.-1)$$

La pendiente del estándar, y análogamente para cada una de las otras preparaciones, se calcula a partir de la fórmula (3.3.5.1.-2) con su correspondiente $L_S, L_T, L_U \dots$

$$b'_s = \frac{6L_S - 3d(d+1)a'}{2d^3 + 3d^2 + d} \quad (3.3.5.1.-2)$$

La relación de potencia para cada preparación desconocida se puede calcular ahora de

$$R'_T = \frac{b'_T}{b'_s} \quad (3.3.5.1.-3)$$

la cual ha de ser multiplicada por A_T , la potencia asumida de la preparación a ensayar, para determinar la potencia estimada R_T . Si el paso entre dosis adyacentes no fuera idéntico para el estándar y la preparación desconocida, la potencia tiene que ser multiplicada por I_S/I_T . Nótese que a diferencia del análisis de líneas paralelas, no se calculan antilogaritmos.

El intervalo de confianza para R'_T se calcula a partir de

$$CR'_T - K' \pm \sqrt{(C-1)(CR'^2_T + 1) + K'(K'-2CR'_T)} \quad (3.3.5.1.-4)$$

Donde

$$C = \frac{b'^2_s}{b'^2_s - s^2 t^2 V_1}$$

y

$$K' = (C-1) V_2$$

V_1 y V_2 están relacionados con la varianza y covarianza del numerador y del denominador de R'_T . Se pueden obtener a partir de

$$V_1 = \frac{6}{n(2d+1)} \left[\frac{1}{d(d+1)} + \frac{3}{2(2d+1) + hd(d-1)} \right] \quad (3.3.5.1.-5)$$

$$V_2 = \frac{3d(d+1)}{(3d+1)(d+2) + hd(d-1)} \quad (3.3.5.1.-6)$$

Los límites de confianza se multiplican por A_T , y si es preciso por I_S/I_T .

3.3.5.2 Diseño (hd)

Las fórmulas son las mismas que para el diseño $(hd + 1)$, con las siguientes modificaciones

$$a' = a \quad (3.3.5.2.-1)$$

$$V_1 = \frac{6}{nd(2d+1)} \left[\frac{1}{d+1} + \frac{3}{h(d-1)} \right] \quad (3.3.5.2.-2)$$

$$V_2 = \frac{3(d+1)}{3(d+1) + h(d-1)} \quad (3.3.5.2.-3)$$

4 ENSAYOS QUE DEPENDEN DE RESPUESTAS CUANTALES

4.1 Introducción

En ciertos ensayos es imposible o excesivamente laborioso medir el efecto sobre cada unidad experimental en una escala cuantitativa. En cambio, un efecto (respuesta) tal como la muerte o síntomas de hipoglucemia, se pueden observar como que “ocurren” o “no ocurren” en cada unidad y el resultado depende del número de unidades en las cuales ocurre. Tales ensayos se llaman cuantales o del todo-o-nada.

La situación es muy similar a lo descrito para ensayos cuantitativos en la *Sección 3.1*, pero en lugar de n respuestas separadas para cada tratamiento se registra un valor único, esto es, la fracción de unidades en cada grupo de tratamiento que muestra una respuesta. Cuando estas fracciones son representadas frente al logaritmo de las dosis la curva resultante tiende a ser sigmoidea más que lineal. Se emplea una función matemática que represente esta curvatura sigmoidea para estimar la curva dosis-respuesta. La función más comúnmente empleada es la función de distribución normal acumulada. Esta función tiene ventajas teóricas y es quizá la mejor elección si la respuesta es un reflejo de la tolerancia de las unidades. Si la respuesta tiende más a depender de un proceso de crecimiento, se prefiere el modelo de distribución logística, aunque entre los dos modelos la diferencia en el resultado es muy pequeña.

Los estimadores de máxima verosimilitud de la pendiente y localización de las curvas se pueden determinar únicamente aplicando un procedimiento iterativo. Existen muchos procedimientos que conducen al mismo resultado, pero difieren en eficiencia debido a la velocidad de convergencia. Uno de los métodos más rápidos es la optimización directa de la función de máxima verosimilitud, lo cual puede ser fácilmente realizado con programas de computación que contengan un procedimiento interno elaborado con esta finalidad. Desafortunadamente, la mayoría de estos procedimientos no proporcionan una estimación del intervalo de confianza y la técnica de obtención es demasiado complicada para ser descrita aquí. La técnica descrita a continuación no es la más rápida pero ha sido elegida por su simplicidad comparada con las otras alternativas. Puede ser empleada en ensayos en los que una o más preparaciones se comparan al estándar en los que además han de cumplimentarse las siguientes condiciones:

- 1) La relación entre el logaritmo de la dosis y la respuesta se puede representar por una curva de distribución normal acumulada.
- 2) Las curvas para el estándar y para la preparación muestra son paralelas, es decir, tienen una forma idéntica y pueden diferir solamente en su localización horizontal.
- 3) En teoría, naturalmente no hay respuesta a dosis extremadamente bajas y no hay respuesta a dosis extremadamente altas.

4.2 Método de probitos

La curva sigmoidea se puede transformar en una recta sustituyendo cada respuesta, esto es la proporción de respuestas positivas por grupo, por el correspondiente valor de la distribución normal estándar acumulada. Este valor, a menudo llamado “normito”, toma valores teóricos entre $-\infty$ a $+\infty$. Tiempo atrás se proponía añadir 5 a cada normito para obtener “probito”. Esto facilitaba los cálculos hechos a mano ya que se evitaban los valores negativos. Con la llegada de las computadoras la necesidad de sumar 5 a los normitos ha desaparecido. El término “método de normitos” sería más apropiado para el método descrito a continuación. No obstante, ya que el término “análisis de probitos” está tan ampliamente difundido se mantendrá dicho término en el texto por razones históricas.

Una vez que las respuestas han sido linealizadas, debiera ser posible aplicar el análisis de líneas paralelas como se describe en la *Sección 3.2*. Desafortunadamente, la validez de condición de homogeneidad de la varianza para cada dosis no se cumple. La varianza es mínima para normito = 0 y crece para valores tanto positivos como negativos del normito. Por tanto, es necesario dar más peso a las respuestas en la parte media de la curva y menos peso en las partes más extremas de la misma. Este método, el análisis de varianza, la estimación de la potencia y del intervalo de confianza se describen a continuación.

4.2.1 Tabulación de resultados

La *Tabla 4.2.1.-I* se emplea para introducir datos en las columnas indicadas por números:

- (1) Dosis del estándar o de la preparación desconocido
- (2) Número n de unidades sometidas a ese tratamiento.
- (3) Número de unidades r que dan respuesta positiva al tratamiento.
- (4) Logaritmo x de la dosis.
- (5) Proporción $p = r/n$ de respuestas positivas por grupo.

El primer ciclo empieza aquí.

(6) La columna Y se completa con ceros en la primera iteración.

(7) El valor correspondiente a $\Phi = \Phi(Y)$ de la función de distribución normal estándar acumulada (ver *Tabla 7.4*).

Las columnas (8) a (10) se calculan con las siguientes fórmulas:

$$(8) \quad Z = \frac{e^{-Y^2/2}}{\sqrt{2\pi}} \quad (4.2.1.-1)$$

$$(9) \quad y = Y + \frac{p - \Phi}{z} \quad (4.2.1.-2)$$

$$(10) \quad w = \frac{n z^2}{\Phi - \Phi^2} \quad (4.2.1.-3)$$

Las columnas (11) a (15) se pueden calcular fácilmente a partir de las columnas (4), (9) y (10) como wx , wy , wx^2 , wy^2 y wxy respectivamente y la sumatoria de cada una de las columnas (10) a (15) se calcula separadamente para cada una de las preparaciones.

Las sumas calculadas en la *Tabla 4.2.1.-I* se transfieren a las columnas (1) a (6) de la *Tabla 4.2.1.-II* y se calculan seis columnas adicionales (7) a (12) como sigue.

Tabla 4.2.1.-I Primer tabla de trabajo

	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)	(13)	(14)	(15)
	dosis	n	r	x	p	Y	Φ	Z	y	w	wx	wy	wx^2	wy^2	wxy
S

										$\Sigma =$	$\Sigma =$	$\Sigma =$	$\Sigma =$	$\Sigma =$	$\Sigma =$
T

										$\Sigma =$	$\Sigma =$	$\Sigma =$	$\Sigma =$	$\Sigma =$	$\Sigma =$
etc.															

Tabla 4.2.1.-II Segunda tabla de trabajo

	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)
	Σw	Σwx	Σwy	Σwx^2	Σwy^2	Σwxy	S_{xx}	S_{xy}	S_{yy}	\bar{x}	\bar{y}	a
S
T
etc.
							$\Sigma =$	$\Sigma =$				

$$(7) \quad S_{xx} = \Sigma wx^2 - \frac{(\Sigma wx)^2}{\Sigma w} \quad (4.2.1.-4)$$

$$(8) \quad S_{xy} = \Sigma wxy - \frac{(\Sigma wx)(\Sigma wy)}{\Sigma w} \quad (4.2.1.-5)$$

$$(9) \quad S_{yy} = \sum wy^2 - \frac{(\sum wy)^2}{\sum w} \quad (4.2.1.-6)$$

$$(10) \quad \bar{x} = \frac{\sum wx}{\sum w} \quad (4.2.1.-7)$$

$$(11) \quad \bar{y} = \frac{\sum wy}{\sum w} \quad (4.2.1.-8)$$

La pendiente común, b puede obtenerse ahora así

$$b = \frac{\sum S_{xy}}{\sum S_{xx}} \quad (4.2.1.-9)$$

la intersección " a " del estándar y de las preparaciones desconocidas, se obtienen como

$$(12) \quad a = \bar{y} - b\bar{x} \quad (4.2.1.-10)$$

La columna (6) de la primera tabla de trabajo puede ser ahora sustituida por $Y = a + bx$ y el ciclo se va repitiendo hasta que la diferencia entre dos ciclos se ha hecho pequeña (por ejemplo, la máxima diferencia de Y entre dos ciclos consecutivos es inferior a 10^{-8}).

4.2.2 Criterios de validez

Antes de calcular las potencias e intervalos de confianza, debe ser evaluada la validez del ensayo. Si se han incluido al menos tres dosis para cada preparación, las desviaciones de la linealidad se pueden medir como sigue: añadir una columna 13 a la *Tabla 4.2.1.-II* y completarla según la expresión:

$$S_{yy} - \frac{S_{xy}^2}{S_{xx}} \quad (4.2.2.-1)$$

El total de columna es una medida de las desviaciones de la linealidad y se distribuye, aproximadamente, como una χ^2 con $N - 2h$ grados de libertad. La significación de este valor puede establecerse con la *Tabla 7.3* o con una adecuada subrutina en un programa de computación. Si el valor es significativo a un nivel de probabilidad de 0,05, el ensayo debe probablemente ser rechazado (ver *Sección 4.2.4*).

Cuando el ensayo anterior no indica desviación significativa de regresión lineal, se contrastan las desviaciones del paralelismo, a un nivel de significación del 0,05, con:

$$\chi^2 = \sum \frac{S_{xy}^2}{S_{xx}} - \frac{(\sum S_{xy})^2}{\sum S_{xx}} \quad (4.2.2.-2)$$

Con $h - 1$ grados de libertad.

4.2.3 Estimación de la potencia y límites de confianza

Cuando no se detecta desviación significativa del paralelismo y la linealidad, el \ln (relación de potencia) M_T se calcula como:

$$M'_T = \frac{a_T - a_S}{b} \quad (4.2.3.-1)$$

Se aplica el antilogaritmo. Ahora se considera $t = 1,96$ y $s = 1$.
Los límites de confianza se calculan como los antilogaritmos de:

$$CM'_T - (C-1)(\bar{x}_S - \bar{x}_T) \pm \sqrt{(C-1)(V \sum S_{xx} + C(M'_T - \bar{x}_S + \bar{x}_T)^2)} \quad (4.2.3.-2)$$

donde
$$C = \frac{b^2 \sum S_{xx}}{b^2 \sum S_{xx} - s^2 t^2}$$

y
$$V = \frac{1}{\sum_S w} + \frac{1}{\sum_T w}$$

4.2.4 Ensayos no válidos

Si la prueba de desviación de la linealidad, descrita en la *Sección 4.2.2.*, es significativa el ensayo deberá normalmente ser rechazado. Si existieran razones para mantener el ensayo, las fórmulas se modificarán ligeramente, t se toma como el valor t ($p = 0,05$) con el mismo número de grados de libertad utilizado en la revisión de la linealidad y s^2 pasa a ser el valor χ^2 dividido por el mismo número de grados de libertad (por ello es mayor que uno).

La prueba de paralelismo también se modifica ligeramente. El valor χ^2 para no paralelismo se divide por su número de grados de libertad. El valor resultante se divide por s^2 calculado anteriormente para obtener la razón F , con $h-1$ y $N-2h$ grados de libertad, el cual es evaluado de la forma habitual al 0,05 de nivel de significación.

4.3 Métodos de logitos

Como se indicó en la *Sección 4.1* el método de logitos puede ser algunas veces más apropiado. El nombre de este método se deriva de la función logit, que es la inversa de la función de distribución logística. El procedimiento es similar al descrito para el método probitos con las modificaciones siguientes en las formulas para Φ y Z .

$$\Phi = \frac{1}{1 + e^{-Y}} \quad (4.3.-1)$$

$$Z = \frac{e^{-Y}}{(1 + e^{-Y})^2} \quad (4.3.-2)$$

4.4 Otras formas de la curva

Los métodos de probitos y logitos son casi siempre adecuados para el análisis de las llamadas respuestas cuantales en la FA. Sin embargo, si puede ser evidente que la curva ln dosis-respuesta tiene una forma diferente de la que describen las dos curvas anteriores, se puede adoptar otra curva Φ . En este caso Z se toma como la primera derivada de Φ .

Por ejemplo: si puede mostrarse que la curva no es simétrica, la distribución de Gompertz podría ser apropiada (método de gompito) en este caso

$$\Phi = 1 - e^{-e^Y}$$

$$Z = e^{Y-e^Y}$$

4.5 Dosis mediana efectiva

En algunos tipos de ensayos interesa determinar la dosis mediana efectiva, que es la dosis que produce una respuesta en el 50 % de las unidades. Se puede utilizar el método de probitos para determinar esta dosis mediana

efectiva (ED50), pero ya que no es necesario expresar esta dosis relativa a un estándar, las fórmulas son ligeramente diferentes.

[NOTA: se puede incluir opcionalmente un estándar con objeto de validar el ensayo. Normalmente el ensayo se considera válido si el valor calculado ED50 del estándar está suficientemente cercano al valor asignado ED50. El significado de "suficientemente cercano", en este contexto, depende de los requerimientos especificados en la monografía.]

La tabulación de las respuestas para las preparaciones desconocidas y opcionalmente para el estándar, se hace como se describe en la *Sección 4.2.1*. La prueba de linealidad es como se describe en la *Sección 4.2.2*. Para este tipo de ensayo no es necesario una prueba de paralelismo. La ED50 de la preparación desconocida T y análogamente de las otras muestras se obtiene, como se describe en la *Sección 4.2.3*, con las siguientes modificaciones en las fórmulas 4.2.3.-1 y 4.2.3.-2.

$$M'_T = \frac{-a_T}{b} \quad (4.5.-1)$$

$$CM'_T - (C-1)\bar{x}_T \pm \sqrt{(C-1)(V \sum S_{xx} + C(M'_T + \bar{x}_T)^2)} \quad (4.5.-2)$$

donde

$$V = \frac{1}{\sum_T w}$$

y C se deja sin modificar

5 EJEMPLOS

5.1 Modelo de líneas paralelas

5.1.1 Ensayo múltiple de tres dosis con diseño completamente aleatorizado.

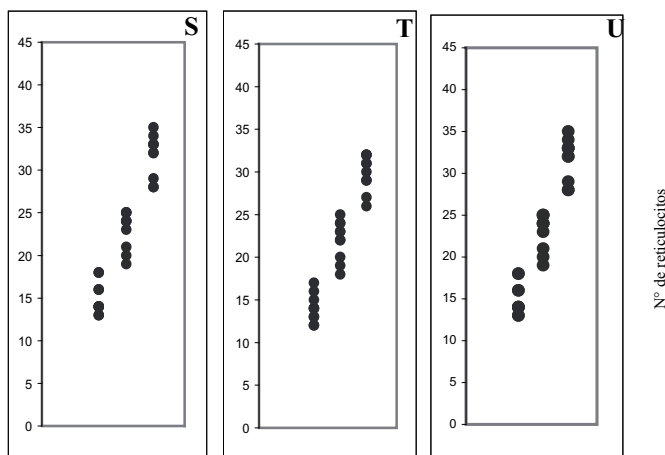
Ensayo de eritropoyetina mediante inyección subcutánea en ratones normocitémicos con recuento visual de la respuesta (número de reticulocitos) en cámara de Neubauer.

La potencia asumida de las preparaciones T y U es de 2000 UI/ml. Las dosis del estándar y preparaciones son 10, 30 y 90 UI/0,5ml/ratón. Las respuestas individuales y medias están dadas, para cada preparación en la *Tabla 5.1.1.-I* y representadas en la *Figura 5.1.1.-I*.

Tabla 5.1.1.-I Respuesta(y) número de reticulocitos

	Estándar S			Preparación T			Preparación U		
	S ₁	S ₂	S ₃	T ₁	T ₂	T ₃	U ₁	U ₂	U ₃
	13	25	34	14	20	27	17	25	34
	14	19	32	12	18	26	15	28	37
	18	21	33	15	23	29	16	27	35
	14	20	29	12	24	32	20	25	36
	14	24	28	14	19	30	18	29	35
	16	24	32	14	23	32	17	26	40
	13	23	33	17	22	29	17	27	39
	16	25	28	13	24	31	15	24	37
	14	25	33	16	22	32	19	25	39
	18	24	35	13	25	31	17	26	39
Media	15	23	31,7	14	22	29	17,1	26,2	37,1

Figura 5.1.1-I



Las fórmulas de las *Tablas 3.2.3.-I* y *3.2.3.-II* proporcionan:

$$P_S = 69,7$$

$$L_S = 16,7$$

$$P_T = 65,9$$

$$L_T = 15,9$$

$$P_U = 80,4$$

$$L_U = 20,0$$

$$H_p = \frac{10}{3} = 3,333333$$

$$H_L = \frac{120}{24} = 5$$

$$K = 51840$$

El análisis de varianza se puede ahora completar con las fórmulas de las *Tablas 3.2.3.-III* y *3.2.3.-IV*. Este se muestra en la *Tabla 5.1.1.-II*.

Tabla 5.1.1.-II. Análisis de varianza

<i>Fuente de variación</i>	<i>Grado de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón F</i>	<i>Probabilidad</i>
<i>Preparaciones</i>	2	376,8614	188,4307		
<i>Regresión</i>	1	4611,2667	4611,2667	1137,3768	0,0000
<i>No paralelismo</i>	2	47,2333	23,6165	5,8250	0,0043
<i>No linealidad</i>	3	6,2386	2,0795	0,5129	0,6745
<i>Tratamientos</i>	8	5041,6			
<i>Error Residual</i>	81	328,4	4,0543		
<i>Total</i>	89	5370			

El análisis confirma una regresión lineal altamente significativa. La falta de paralelismo es también significativa ($p = 0,0043$). La preparación U es por tanto rechazada y el análisis se repite utilizando únicamente la preparación T y la preparación estándar. El valor K es ahora 30645,6.

Tabla 5.1.1.-III. Análisis de varianza

<i>Fuente de variación</i>	<i>Grado de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón F</i>	<i>Probabilidad</i>
<i>Preparaciones</i>	1	24,0636	24,0600		
<i>Regresión</i>	1	2656,9000	2656,9000	585,6070	0,0000
<i>No paralelismo</i>	1	1,6000	1,6000	0,3527	0,5551
<i>No linealidad</i>	2	0,8364	0,4182	0,0922	0,9120
<i>Tratamientos</i>	5	2683,4			
<i>Error Residual</i>	54	245,0	4,5370		
<i>Total</i>	59	2928,4			

El análisis sin la preparación U cumple los requerimientos con respecto a la regresión, linealidad y paralelismo por lo tanto la potencia puede ser calculada. Aplicando las fórmulas de la *Sección 3.2.5* se obtiene:

Para la pendiente común

$$b = \frac{5 \times (16,7 + 15,9)}{\ln 3 \times 10 \times 2} = 7,4148$$

El ln de la relación de potencias es

$$M'_T = \frac{65,9 - 69,7}{3 \times 7,4184} = -0,1707$$

$$C = \frac{2656,9}{2656,9 - 4,5370 \times 2,005^2} = 1,0069$$

$$V = \frac{2656,9}{7,4184^2 \times 3 \times 10} = 1,6093$$

Los ln de los límites de confianza para la preparación T son:

$$-0,1719 \pm \sqrt{0,0069 \times (0,0293 + 3,2186)} = -0,1719 \pm 0,1497$$

Tomando antilogaritmos encontramos una relación de potencias de 0,8430 con límites de confianza, del 95 por ciento, de 0,7250 y 0,9780.

Multiplicando por la potencia asumida de la preparación T resulta una potencia de 1686 UI/ml con límites de confianza, del 95 por ciento, de 1450 y 1956 UI/ml.

5.1.2 Ensayo múltiple de cinco dosis con diseño completamente aleatorizado

Ensayo in vitro de tres vacunas de hepatitis B frente a un estándar

De cada una de las vacunas y del estándar se prepararon tres series independientes de cinco diluciones, en progresión geométrica (al medio). Después de algunos pasos adicionales en el procedimiento del ensayo, se midieron las absorbancias. Los resultados se muestran en la *Tabla 5.1.2.-I*.

Tabla 5.1.2.-I. Densidades ópticas

Dilución	Estándar S			Preparación T			Preparación U			Preparación V		
1:16000	0,043	0,045	0,051	0,097	0,097	0,094	0,086	0,071	0,073	0,082	0,082	0,086
1:8000	0,093	0,099	0,082	0,167	0,157	0,178	0,127	0,146	0,133	0,145	0,144	0,173
1:4000	0,159	0,154	0,166	0,327	0,355	0,345	0,277	0,268	0,269	0,318	0,306	0,316
1:2000	0,283	0,295	0,362	0,501	0,665	0,576	0,586	0,489	0,546	0,552	0,551	0,624
1:1000	0,514	0,531	0,545	1,140	1,386	1,051	0,957	0,866	1,045	1,037	1,039	1,068

Es conocido que los logaritmos de las densidades ópticas tienen una relación lineal con los logaritmos de las dosis. En la *Tabla 5.1.2.-II* figuran las respuestas medias de las densidades ópticas logaritmicamente transformadas.

Tabla 5.1.2.-II. Medias de las transformaciones ln de las absorbancias

S ₁	-3,075	T ₁	-2,343	U ₁	-2,572	V ₁	-2,485
S ₂	-2,396	T ₂	-1,789	U ₂	-2,002	V ₂	-1,874
S ₃	-1,835	T ₃	-1,073	U ₃	-1,305	V ₃	-1,161
S ₄	-1,166	T ₄	-0,550	U ₄	-0,618	V ₄	-0,554
S ₅	-0,635	T ₅	0,169	U ₅	-0,048	V ₅	0,047

Las fórmulas de las *Tablas 3.2.3.-I* y *3.2.3.-II* proporcionan:

$$P_S = -9,108$$

$$L_S = 6,109$$

$$P_T = -5,586$$

$$L_T = 6,264$$

$$P_U = -6,544$$

$$L_U = 6,431$$

$$P_V = -6,027$$

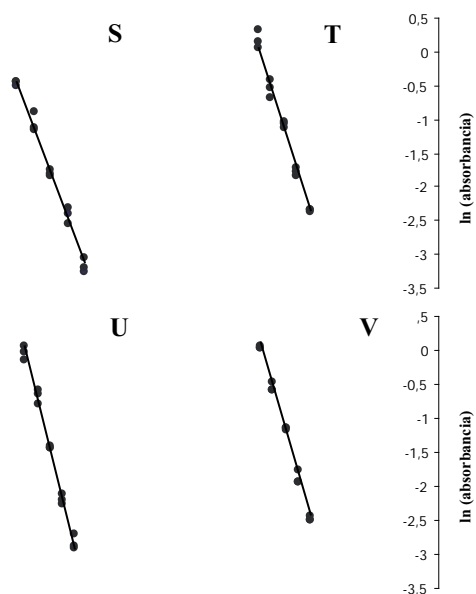
$$L_V = 6,384$$

$$H_p = \frac{3}{5} = 0,6$$

$$H_L = \frac{36}{120} = 0,3$$

$$K = 111,52$$

Figura 5.1.2.-I



El análisis de varianza ya puede ser completado con las fórmulas de las *Tablas 3.2.3.-III* y *3.2.3.-IV*. El resultado se presenta en la *Tabla 5.1.2.-III*.

Tabla 5.1.2.-III. Análisis de varianza

<i>Fuente de variación</i>	<i>Grado de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón F</i>	<i>Probabilidad</i>
<i>Preparaciones</i>	3	4,475	1,492		
<i>Regresión</i>	1	47,58	47,58	7126	0,000
<i>No paralelismo</i>	3	0,0187	0,006	0,933	0,434
<i>No linealidad</i>	12	0,0742	0,006	0,926	0,531
<i>Tratamientos</i>	19	52,152			
<i>Error Residual</i>	40	0,267	0,0067		
<i>Total</i>	59	52,42			

Una regresión altamente significativa y un desvío de paralelismo y linealidad no significativa, confirma que las potencias pueden ser calculadas satisfactoriamente. Aplicando las fórmulas de la *Sección 3.2.5* dan:

$$b = \frac{0,3 \times (6,109 + 6,264 + 6,431 + 6,384)}{\ln 2 \times 3 \times 4} = 0,90848$$

El ln de la relación de potencias para la preparación *T* es

$$M'_T = \frac{-5,586 - (-9,108)}{5 \times 0,90848} = 0,7752$$

$$C = \frac{47,58}{47,58 - 0,0067 \times 2,021^2} = 1,00057$$

$$V = \frac{47,58}{0,9085^2 \times 5 \times 3} = 3,8436$$

Los ln de los límites de confianza para la preparación *T* son

$$1,00057 \times 0,7752 \pm \sqrt{0,00057 \times (1,00057 \times 0,7752^2 + 2 \times 3,8436)} = 0,7756 \pm 0,0689$$

Tomando antilogaritmos se calcula una relación de potencias de 2,171 con límites de confianza, del 95 por ciento, de 2,027 y 2,327. Todas las muestras tienen una potencia asignada de 20 µg proteína/ml y por tanto una potencia de 43,4 µg proteína/ml se encuentra para la preparación desconocida *T* con límites de confianza, del 95 por ciento, de 40,5 y 46,5 µg proteína/ml.

El mismo procedimiento se sigue para estimar la potencia y los límites de confianza de las otras preparaciones ensayadas. Los resultados se muestran en la *Tabla 5.1.2.-IV*.

Tabla 5.1.2.-IV

Potencia final estimada e intervalos de confianza del 95% del ensayo de vacunas (en µg proteína/ml)

	<i>Límite inferior</i>	<i>Estimación</i>	<i>Límite superior</i>
<i>Vacuna T</i>	40,5	43,4	46,5
<i>Vacuna U</i>	32,9	35,2	37,6
<i>Vacuna V</i>	36,8	39,4	42,2

5.1.3 Ensayo de dos dosis con diseño de cuadrado latino y sin replicación

Ensayo de Ocitocina usando órgano aislado

Tabla 5.1.3.-I Disposiciones de tratamientos (Cuadrado latino)

<i>Filas</i>	<i>Columnas</i>			
	1	2	3	4
1	<i>S</i> ₁	<i>S</i> ₂	<i>T</i> ₁	<i>T</i> ₂
2	<i>S</i> ₂	<i>T</i> ₁	<i>T</i> ₂	<i>S</i> ₁
3	<i>T</i> ₁	<i>T</i> ₂	<i>S</i> ₁	<i>S</i> ₂
4	<i>T</i> ₂	<i>S</i> ₁	<i>S</i> ₂	<i>T</i> ₁

La preparación estándar se administró en dosis de 0,001UI/ml y 0,003 UI/ml. Se prepararon dosis equivalentes de las preparaciones *T* basándose en una potencia supuesta de 10 UI/ml. Cada uno de los cuatro tratamientos se aplicó una vez en cada fila y una vez en cada columna.

Tabla 5.1.3.-II Medida de contracción del útero en milímetros.

<i>Filas</i>	<i>Columnas</i>				<i>Media de las filas (R)</i>
	1	2	3	4	
1	26	31	20	33	27,50
2	31,5	18	29	23	25,375
3	17	22	16	28	20,75
4	24	14	24	16	19,50
<i>Media de las columnas (C)</i>	24,625	21,25	22,25	25,00	

Tabla 5.1.3.-III Medias de los tratamientos

Media	Estándar S		Preparación T	
	S ₁	S ₂	T ₁	T ₂
	19,75	28,625	17,75	27,00

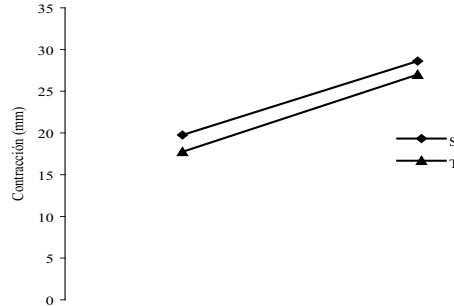


Figura 5.1.3.- I

Las fórmulas de las Tablas 3.2.3.-I y 3.2.3.-II proporcionan:

$$P_S = 48,375$$

$$L_S = 4,4375$$

$$P_T = 44,75$$

$$L_T = 4,625$$

$$H_P = 2$$

$$H_L = \frac{48}{6} = 8$$

$$K = 8672,265625$$

El análisis de varianza ya puede ser completado con las fórmulas de las Tablas 3.2.3.-III y 3.2.3.-IV. El resultado se muestra en la Tabla 5.1.3.-IV.

Tabla 5.1.3.-IV Análisis de varianza

Fuente de variación	Grado de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Razón F	Probabilidad
Preparaciones	1	13,1406	13,1406		
Regresión	1	328,5156	328,5156	512,8248	0,0000
No paralelismo	1	0,1406	0,1406	0,2195	0,6560
Tratamientos	3	341,7969	113,9323		
Filas	3	171,5469	57,1823	89,2637	0,0000
Columnas	3	39,7969	13,2656	20,7081	0,0014
Error Residual	6	3,8436	0,6406		
Total	15	556,9843	37,1323		

El análisis de varianza demostró diferencias significativas entre las filas y las columnas. Esto indica el aumento de precisión conseguido mediante el uso de un diseño cuadrado latino en lugar de un diseño completamente aleatorizado.

La regresión altamente significativa y el desvío del paralelismo no significativo, confirman que el ensayo es válido y se calcula la potencia aplicando las fórmulas de la Sección 3.2.5.

$$b = \frac{8 \times (4,4375 + 4,625)}{\ln 3 \times 4 \times 2} = 8,2491$$

El ln de la relación de potencia para la preparación *T* es

$$M'_T = \frac{44,75 - 48,375}{2 \times 8,2491} = -0,2197$$

$$C = \frac{328,5156}{328,5156 - 0,6406 \times 5,9878} = 1,0118$$

$$V = \frac{328,5156}{4 \times 2 \times (8,2491)^2} = 0,6035$$

y ln de los límites de confianza para la preparación *T* es:

$$1,0118(-0,2197) \pm \sqrt{(1,0118 - 1) \times (1,0118 \times (-0,2197))^2 + 2 \times 0,6035} = -0,2223 \pm 0,1217$$

Tomando antilogaritmos se calcula una relación de potencias de 0,8028 con límites de confianza, del 95 por ciento, de 0,7089 y 0,9043. Multiplicando por la potencia asumida de 10 UI/ml resulta una potencia de 8,028 UI/ml con límites de confianza de 7,089 y 9,043 UI/ml.

5.2 Modelo de relación de pendientes

5.2.1 Ensayo completamente aleatorizado con diseño (2 × 3 + 1)

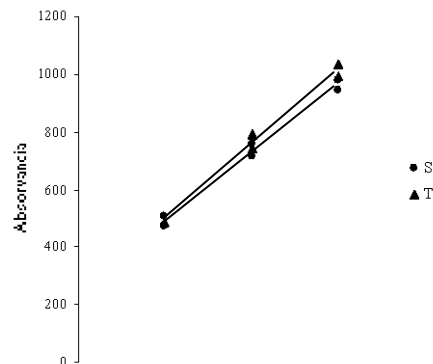
Ensayo de Factor VIII

Se lleva a cabo un ensayo cromogénico de actividad de concentrado de factor VIII. Se preparan tres diluciones independientes en progresión aritmética, por duplicado, tanto para el estándar como para la preparación desconocida. Además se prepara un blanco. Se realizan dos réplicas de cada dilución y se usa el promedio de estas como respuesta a cada tratamiento. Potencia asumida 250 UI/vial.

Tabla 5.2.1-I Promedio de Absorbancias

	Blanco	Estándar (S)			Desconocido (T)		
		S ₁	S ₂	S ₃	T ₁	T ₂	T ₃
		mUI/ml			mUI/ml		
		1,5	3,0	4,5	1,5	3,0	4,5
	241	474	714	946	487	790	992
	245	509	754	976	486	745	1034
Media	243,0	491,5	734,0	961,0	486,5	767,5	1013,0

Figura 5.2.1-I



Las fórmulas de las *Tablas 3.3.3.1.-I y 3.3.3.1.-II* proporcionan

$$\begin{array}{ll}
 P_S = 2186,50 & P_T = 2267 \\
 L_S = 4842,50 & L_T = 5060,5 \\
 a_S = 1556,00 & a_T = 1375 \\
 b_S = 939,00 & b_T = 1053 \\
 G_S = 1703849,25 & G_T = 1851907,5 \\
 J_S = 40,042 & J_T = 210,042 \\
 H_B = 0,923076923 & H_I = 0,023809523 \\
 a = 244,25 & K = 6302032,071
 \end{array}$$

El análisis de varianza ya puede ser completado con las fórmulas de las *Tablas 3.3.3.1.-III y 3.3.3.1.-IV*. El resultado se muestra en la *Tabla 5.2.1.-II*.

Tablas 5.2.1.-II Análisis de varianza

<i>Fuente de variación</i>	<i>Grado de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>Razón F</i>	<i>Probabilidad</i>
<i>Regresión</i>	2	926687,8068	463343,9034	861,3460	0,0000
<i>Blancos</i>	1	1,4423	1,4423	0,0027	0,9600
<i>Intersección</i>	1	390,0119	390,0119	0,7250	0,4227
<i>No linealidad</i>	2	500,1680	250,0840	0,4649	0,6463
<i>Tratamientos</i>	6	927579,4290	154596,5715		
<i>Error Residual</i>	7	3765,5000	537,938		
<i>Total</i>	13	931344,9290			

Una regresión altamente significativa y desviaciones no significativas de linealidad e intersección indica que puede ser calculada la potencia. Además se observa el cumplimiento de blancos.

Aplicando las fórmulas de la *Sección 3.3.5* se obtiene:

$$a' = 243,5769$$

Pendiente del estándar

$$b'_S = \frac{6 \times 4842,50 - 9 \times 4 \times 243,5769}{2 \times 27 + 9 \times 3 + 3} = 241,5028$$

Pendiente de la preparación desconocida

$$b'_T = \frac{6 \times 5060,50 - 9 \times 4 \times 243,5769}{2 \times 27 + 9 \times 3 + 3} = 257,0742$$

La relación de potencia para la preparación *T* es

$$R'_T = 1,0645$$

$$C = \frac{241,5028^2}{241,5028^2 - 537,938 \times 2,3646^2 \times 0,0852} = 1,0044$$

$$K' = (1,0044 - 1)0,58064 = 0,0025$$

Los límites de confianza se calculan a partir de

$$1,0044 \times 1,0645 - 0,0025 \pm \sqrt{(1,0044 - 1)(1,1381 + 1) + 0,0025(0,0025 - 2,1383)} = 1,0666 \pm 0,0629$$

Se calcula una relación de potencias de 1,0645 con límites de confianza, del 95 por ciento, de 1,0037 y 1,1295. Como la preparación analizada tiene una potencia asumida de 250 UI/vial, por lo tanto su potencia estimada es de 266,12 UI/vial con límites de confianza de 250,92 UI/vial y 282,37 UI/vial. Nótese que a diferencia del análisis de líneas paralelas no se calculan los antilogaritmos.

5.2.2 Ensayo completamente aleatorizado con diseño (3×4)

Un ensayo in vitro de vacunas de influenza

El contenido en antígeno hemaglutinina (HA) de dos vacunas de influenza es determinado por inmunodifusión radial simple. Ambas tienen una potencia en rótulo de 15 µg HA por dosis, que equivale a un contenido de 30 µg HA/ml. El estándar tiene un contenido asignado de 39 µg HA/ml.

Se aplica el estándar y las dos vacunas problema en cuatro concentraciones duplicadas las cuales están preparadas sobre la base de los contenidos asignado y declarado respectivamente. Cuando se establece el equilibrio entre los reactantes, externo e interno, se mide la zona del área de precipitación anular. Los resultados se muestran en la *Tabla 5.2.2.-I*.

Tabla 5.2.2.1 Zona de precipitación area (mm²)

Concentración (µg/ml)	Estándar		Preparación T		Preparación U	
	I	II	I	II	I	II
7,5	18,0	18,0	15,1	16,8	15,4	15,7
15,0	22,8	24,5	23,1	24,2	20,2	18,6
22,5	30,4	30,4	28,9	27,4	24,2	23,1
30,0	35,7	36,6	34,4	37,8	27,4	27,0

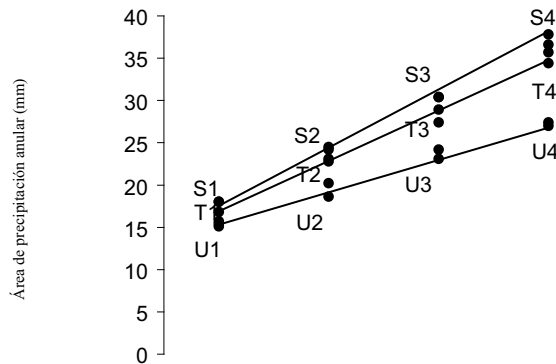


Figura 5.2.2.-I

Una representación gráfica de los datos no muestra hechos inusuales. Aplicando las fórmulas de las *Tablas 3.3.3.1.-I* y *3.3.3.1.-II* se obtiene:

$$\begin{array}{lll}
 P_S = 108,2 & P_T = 103,85 & P_U = 85,8 \\
 L_S = 301,1 & L_T = 292,1 & L_U = 234,1 \\
 a_S = 141,0 & a_T = 116,7 & a_U = 139,8 \\
 b_S = 61,2 & b_T = 64,95 & b_U = 39,2 \\
 G_S = 3114,3 & G_T = 2909,4 & G_U = 1917,3 \\
 J_S = 0,223 & J_T = 2,227 & J_U = 0,083 \\
 H_I = 0,00925926 & a' = 11,0416667 & K = 14785,7704
 \end{array}$$

y el análisis de varianza se completa con las fórmulas de las *Tablas 3.3.3.1.-III* y *3.3.3.1.-IV*. Esto se muestra en la *Tabla 5.2.2.-II*.

Tabla 5.2.2.-II Análisis de varianza

Fuente de variación	Grado de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Razón F	Probabilidad
Regresión	3	1087,66519	362,55065	339,497525	0,0000
Intersección	2	3,47388889	1,7369444	1,62647939	0,2371
No linealidad	6	5,0655	0,84425	0,79055794	0,5943
Tratamientos	11	1096,20458			
Error Residual	12	12,815	1,06791667		
Total	23	1109,01958			

Una regresión altamente significativa y desviaciones no significativa de linealidad e intersección indica que puede ser calculada la potencia.

Pendiente del estándar $b'_s = \frac{6 \times 301,1 - 60 \times 11,0416667}{180} = 6,35611$

Pendiente T es $b'_T = \frac{6 \times 292,1 - 60 \times 11,0416667}{180} = 6,05611$

Pendiente de U es $b'_U = \frac{6 \times 234,1 - 60 \times 11,0416667}{180} = 4,12277$

Esto proporciona una relación de potencias de 0,95280 para la vacuna T y 0,64863 para la vacuna U.

$$C = \frac{6,35611^2}{6,35611^2 - 1,06791667 \times 2,179^2 \times 0,4444} = 1,00561$$

$$K' = 0,00560842 \times 0,625 = 0,0035$$

Y los límites de confianza se determinan con la fórmula 3.3.5.1.-4

Para la vacuna T son: $0,95464 \pm \sqrt{0,00561 \times 1,91292 + 0,0035 \times (-1,91279)} = 0,95464 \pm 0,06343$

Para la vacuna U son: $0,64877 \pm \sqrt{0,00561 \times 1,42308 + 0,0035 \times (-1,30104)} = 0,64877 \pm 0,05856$

El contenido HA por dosis se puede determinar multiplicando las razones de potencias y límites de confianza por la potencia asumida, 15 µg/dosis. Los resultados están dados en la Tabla 5.2.2.-III

Tabla 5.2.2.-III Estimación de potencia HA (µg/dosis)

	Límite inferior	Potencia estimada	Límite superior
Vacuna T	13,4	14,3	15,3
Vacuna U	8,9	9,7	10,6

6 COMBINACIÓN DE RESULTADOS DE ENSAYOS

6.1 Introducción

Con frecuencia es necesario la repetición de ensayos independientes y la combinación de sus resultados para cumplir los requisitos de este Código. La cuestión que surge es, si es apropiado combinar los resultados de tales ensayos y si es así, de qué forma debe hacerse.

Dos ensayos pueden ser considerados mutuamente independientes cuando la ejecución de uno no afecta las probabilidades de los posibles resultados del otro. Esto implica que los errores aleatorios en la totalidad de los factores esenciales que influyen sobre el resultado (por ejemplo, diluciones del estándar y de la preparación que se va a examinar, la sensibilidad del indicador biológico) en un ensayo, tienen que ser independientes de los correspondientes errores aleatorios en el otro. Los ensayos, en días sucesivos, usando las diluciones originales y retenidas del estándar no son ensayos independientes.

Existen diversos métodos para combinar los resultados de ensayos independientes, cuanto más aceptable sea teóricamente el método más difícil será de aplicar. A continuación se describen tres (6.2.3 ó 6.2.4 y 6.3) métodos simples de aproximación, se pueden utilizar otros, siempre que se cumplan las condiciones necesarias.

Cuando se combinan potencias de ensayos provenientes de modelo de líneas paralelas las mismas deben ser transformadas a logaritmos (M) y cuando provienen de ensayos de modelo relación de pendientes, las potencias (R) se usan como tal. Ya que los modelos de líneas paralelas son más comunes que los basados en el modelo de relación de pendientes, el símbolo M que denota el logaritmo de la potencia se usa en las fórmulas de esta sección. En ensayos de relación de pendientes se usan las mismas fórmulas y R , pero corregidas por la potencia asumida en cada ensayo previo a la combinación.

6.2 Combinación ponderada de resultados de ensayos

Este método se puede usar siempre que se cumplan las siguientes condiciones:

- 1 - las estimaciones de la potencia derivan de ensayos independientes;
- 2 - para cada ensayo, C está próximo a 1 (inferior a 1,1);
- 3 - el número de grados de libertad de los errores residuales individuales no es inferior a 6, pero preferiblemente es mayor de 15.
- 4 - las potencias individuales estimadas forman un conjunto homogéneo (ver Sección 6.2.2).

Cuando estas condiciones no se cumplen este método no se puede aplicar. Entonces puede utilizarse el método descrito en la Sección 6.3 para obtener la mejor estimación de la potencia media.

6.2.1 Cálculo de los coeficientes de ponderación

Se asume que los resultados de cada uno de los n' ensayos han sido analizados para dar n' valores de M con los límites de confianza asociados. Para cada ensayo se obtiene la longitud del intervalo de confianza logarítmico, L , restando el límite inferior del superior. El peso W para cada valor de M se calcula a partir de la ecuación 6.2.2.-1, en la que t tiene el mismo valor que el utilizado para el cálculo de los límites de confianza.

$$W = \frac{4t^2}{L^2} \quad (6.2.1.-1)$$

6.2.2 Homogeneidad de las estimaciones de potencia

Sumando, de todos los ensayos, la desviación de cada M con respecto a la media ponderada (\bar{M}) elevada al cuadrado y multiplicada por el peso (6.2.2.1) se obtiene un estadístico, χ^2 (ver Tabla 7.3) y que se puede utilizar para probar la homogeneidad de un conjunto de \ln de potencias estimadas:

$$\chi^2 = \sum_n W(M - \bar{M})^2 \quad (6.2.2.-1)$$

donde

$$\bar{M} = \frac{\sum WM}{\sum W}$$

Si el χ^2 calculado es inferior al valor tabulado correspondiente con $(n'-1)$ grados de libertad las potencias son homogéneas y tendrán sentido calcular la potencia media y los límites de confianza por el método de la Sección 6.2.3.

Si el valor calculado de este estadístico es superior al valor tabulado, las potencias son heterogéneas. Esto significa que la variación entre las estimaciones individuales de M es mayor que la que se podría predecir a partir de las estimaciones de los límites de confianza, esto es, que existe una variabilidad significativa entre los ensayos. Bajo estas circunstancias la condición 4 no se cumple y las ecuaciones de la Sección 6.2.3 ya no se pueden aplicar. En cambio se pueden usar las fórmulas de la Sección 6.2.4.

6.2.3 Cálculo de la media ponderada y límites de confianza

Se forman los productos WM para cada ensayo y su suma se divide por el peso total de todos los ensayos para dar el logaritmo de la potencia media ponderada.

$$\bar{M} = \frac{\sum WM}{\sum W} \quad (6.2.3.-1)$$

El error estándar del ln (potencia media) se calcula como la raíz cuadrada de la inversa del peso total:

$$S_{\bar{M}} = \sqrt{\frac{1}{\sum W}} \quad (6.2.3.-2)$$

y se obtienen los límites de confianza aproximados a partir de los antilogaritmos de los valores dados por

$$\bar{M} \pm t S_{\bar{M}} \quad (6.2.3.-3)$$

donde el número de grados de libertad de t es igual a la suma del número de grados de libertad de los cuadrados medios del error de los ensayos individuales.

6.2.4 Media ponderada y límites de confianza basados en la variación intra e inter ensayo

Cuando los resultados de varios ensayos repetidos se combinan, el valor χ^2 puede ser significativo. Se considera entonces que la variación observada tiene dos componentes:

- La variación intra ensayo

$$s_M^2 = \frac{1}{W}$$

- La variación inter ensayo

$$s_M^2 = \frac{\sum (M - \bar{M})^2}{n'(n'-1)}$$

donde \bar{M} es la media no ponderada. La primera componente varía de ensayo a ensayo mientras que la última es común para todo M .

Para cada M se calcula entonces un coeficiente de ponderación como sigue

$$W' = \frac{1}{s_M^2 + s_M^2}$$

que sustituye a W en la Sección 6.2.3 donde t se considera que es aproximadamente 2.

6.3 Combinación no ponderada de resultados de ensayos

Para combinar las n' estimaciones de M a partir de n' ensayos de forma más sencilla se calcula la \bar{M} y se obtiene una estimación de su desviación estándar calculando

$$s_M^2 = \frac{\sum (M - \bar{M})^2}{n'(n'-1)} \quad (6.3.-1)$$

y los límites son:

$$\bar{M} \pm t S_{\bar{M}} \quad (6.3.-2)$$

Donde t tiene $(n'-1)$ grados de libertad. El número n' de estimaciones de M normalmente es pequeño, y por tanto, el valor de t es bastante grande.

6.4 Ejemplo de potencia media ponderada y límites de confianza de ensayos de líneas paralelas

En la *Tabla 6.4.-I* se recogen seis estimaciones independientes de la potencia de la misma preparación, junto con sus límites de confianza del 95 % y el número de grados de libertad de sus varianzas del error. Cumplen las condiciones 1, 2 y 3 de la *Sección 6.2*. Los \ln de las potencias y los pesos se calculan como se describe en la *Sección 6.2*.

Tabla 6.4.-I Potencia estimada e intervalos de confianza de seis ensayos independientes

Potencia estimada (UI/vial)	Límite inferior (UI/vial)	Límite superior (UI/vial)	Grados de libertad	\ln Potencia M	Peso W
18,367	17,755	19,002	20	9,8183	3777,7
18,003	17,415	18,610	20	9,7983	3951,5
18,064	17,319	18,838	20	9,8017	2462,5
17,832	17,253	18,429	20	9,7887	4003,0
18,635	17,959	19,339	20	9,8328	3175,6
18,269	17,722	18,834	20	9,8130	4699,5

Se evalúa la homogeneidad de las potencias estimadas con la fórmula 6.2.2.-1 la cual da un χ^2 de 4,42 con 5 grados de libertad. Esto es, no significativo ($p = 0,49$) por lo que se cumplen todas las condiciones.

La potencia media ponderada se calcula con la fórmula 6.2.3.-1, resulta 9,8085.

La fórmula 6.2.3.-2 da una desviación estándar de 0,00673 y límites de confianza, del 95 %, de 9,7951 y 9,8218 que se calculan con la fórmula 6.2.3.-3 donde t tiene 120 grados de libertad.

Al tomar los antilogaritmos se obtiene una potencia de 18187 IU/vial con límites de confianza de 17946 UI/vial y 18431 IU/vial.

6.5 Ejemplo de potencia media ponderada y límites de confianza de ensayos de relación de pendientes con igual potencia asumida

En la *Tabla 6.5.-I* se especifican seis estimaciones independientes de potencia de la misma preparación, con igual potencia asumida (250UI/vial), la potencia corregida por potencia asumida con sus límites de confianza del 95% y el número de grados de libertad de la varianza del error. Cumplen las condiciones 1,2 y 3 de la *Sección 6.2*.

Tabla 6.5.-I Potencia estimada y peso de cuatro ensayos independientes

Potencia estimada R	Potencia corregida por potencia asumida R'	Grados de libertad	Peso W
260,768	1,043072	7	492,826
260,656	1,042624	7	315,215
250,792	1,003168	7	423,044
260,068	1,040272	7	566,024
270,000	1,080000	7	320,000
240,800	0,963200	7	350,100

Se evalúa la homogeneidad de las potencias estimadas con la formula 6.2.2.-1 la cual da un χ^2 de 2,8584 con 5 grados de libertad, esto es “no significativo”, el χ^2 de tabla es 11,070 por lo que se cumplen todas las condiciones.

La potencia media ponderada se calcula con la fórmula 6.2.3.-1, multiplicada por la potencia supuesta resulta ser 257,25 UI/ vial.

La fórmula 6.2.3.2 da una desviación estándar de 0,02013 y los límites de confianza, del 95%, obtenidos por la formula 6.2.3.3, donde t tiene 42 grados de libertad, dan un resultado de 247,08 UI/vial y 267,41 UI/ vial cuando se multiplican por la potencia supuesta.

7 TABLAS

Las tablas de esta sección proporcionan un listado de valores críticos para los números de grados de libertad más frecuentes. Si un valor crítico no está en la lista debe buscarse en tablas más completas. Muchos programas de ordenador incluyen funciones estadísticas y se recomienda su uso en lugar de las tablas de esta sección.

7.1 Distribución F

Si un valor observado es mayor que el valor de la tabla se considera que es significativo (líneas superiores, $p=0,05$) y muy significativo (líneas inferiores, $p=0,01$). gl 1 es el número de grados de libertad del numerador y gl 2 es el número de grados de libertad del denominador.

Tabla 7.1 Niveles de significación de la relación de varianzas (F)

gl 1→ gl 2↓	1	2	3	4	5	6	8	10	12	15	20	∞
10	4,965 10,044	4,103 7,559	3,708 6,552	3,478 5,994	3,326 5,636	3,217 5,386	3,072 5,057	2,978 4,849	2,913 4,706	2,845 4,558	2,774 4,405	2,538 3,909
12	4,747 9,330	3,885 6,927	3,490 5,953	3,259 5,412	3,106 5,064	2,996 4,821	2,849 4,499	2,753 4,296	2,687 4,155	2,617 4,010	2,544 3,858	2,296 3,361
15	4,543 8,683	3,682 6,359	3,287 5,417	3,056 4,893	2,901 4,556	2,790 4,318	2,641 4,004	2,544 3,805	2,475 3,666	2,403 3,522	2,328 3,372	2,066 2,868
20	4,351 8,096	3,493 5,849	3,098 4,938	2,866 4,431	2,711 4,103	2,599 3,871	2,447 3,564	2,348 3,368	2,278 3,231	2,203 3,088	2,124 2,938	1,843 2,421
25	4,242 7,770	3,385 5,568	2,991 4,675	2,759 4,177	2,603 3,855	2,490 3,627	2,337 3,324	2,236 3,129	2,165 2,993	2,089 2,850	2,007 2,699	1,711 2,169
30	4,171 7,562	3,316 5,390	2,922 4,510	2,690 4,018	2,534 3,699	2,421 3,473	2,266 3,173	2,165 2,979	2,092 2,843	2,015 2,700	1,932 2,549	1,622 2,006
50	4,034 7,171	3,183 5,057	2,790 4,199	2,557 3,720	2,400 3,408	2,286 3,186	2,130 2,890	2,026 2,698	1,952 2,563	1,871 2,419	1,784 2,265	1,438 1,683
∞	3,841 6,635	2,996 4,605	2,605 3,782	2,372 3,319	2,214 3,017	2,099 2,802	1,938 2,511	1,831 2,321	1,752 2,185	1,666 2,039	1,571 1,878	1,000 1,000

7.2 Distribución t

Si un valor observado es superior al tabulado, se considera que es significativo ($p = 0,05$) y muy significativo ($p = 0,01$).

Tabla 7.2 Niveles de significación de t (valores absolutos)

gl	$p = 0,05$	$p = 0,01$	gl	$p = 0,05$	$p = 0,01$
1	12,706	63,656	22	2,074	2,819
2	4,303	9,925	24	2,064	2,797
3	3,182	5,841	26	2,056	2,779
4	2,776	4,604	28	2,048	2,763
5	2,571	4,032	30	2,042	2,750
6	2,447	3,707	35	2,030	2,724
7	2,365	3,499	40	2,021	2,704
8	2,306	3,355	45	2,014	2,690
9	2,262	3,250	50	2,009	2,678
10	2,228	3,169	60	2,000	2,660
12	2,179	3,055	70	1,994	2,648
14	2,145	2,977	80	1,990	2,639
16	2,120	2,921	90	1,987	2,632
18	2,101	2,878	100	1,984	2,626
20	2,086	2,845	∞	1,960	2,576

7.3 Distribución χ^2

Si un valor observado es superior a uno tabulado, se considera que es significativo ($p=0,05$) y muy significativo ($p=0,01$).

Tabla 7.3 Niveles de significación de χ^2

<i>gl</i>	<i>p =0,05</i>	<i>p =0,01</i>	<i>gl</i>	<i>p =0,05</i>	<i>p =0,01</i>
1	3,841	6,635	11	19,675	24,725
2	5,991	9,210	12	21,026	26,217
3	7,815	11,345	13	22,362	27,688
4	9,488	13,277	14	23,685	29,141
5	11,070	15,086	15	24,996	30,578
6	12,592	16,812	16	26,296	32,000
7	14,067	18,475	20	31,410	37,566
8	15,507	20,090	25	37,652	44,314
9	16,919	21,666	30	43,773	50,892
10	18,307	23,209	40	55,758	63,691

7.4 Distribución Φ (Distribución normal estándar acumulada)

X	Φ	X	Φ	X	Φ
0,00	0,500	1,00	0,841	2,00	0,977
0,05	0,520	1,05	0,853	2,05	0,980
0,10	0,540	1,10	0,864	2,10	0,982
0,15	0,560	1,15	0,875	2,15	0,984
0,20	0,579	1,20	0,885	2,20	0,986
0,25	0,599	1,25	0,894	2,25	0,988
0,30	0,618	1,30	0,903	2,30	0,989
0,35	0,637	1,35	0,911	2,35	0,991
0,40	0,655	1,40	0,919	2,40	0,992
0,45	0,674	1,45	0,926	2,45	0,993
0,50	0,691	1,50	0,933	2,50	0,994
0,55	0,709	1,55	0,939	2,55	0,995
0,60	0,726	1,60	0,945	2,60	0,995
0,65	0,742	1,65	0,951	2,65	0,996
0,70	0,758	1,70	0,955	2,70	0,997
0,75	0,773	1,75	0,960	2,75	0,997
0,80	0,788	1,80	0,964	2,80	0,997
0,85	0,802	1,85	0,968	2,85	0,998
0,90	0,816	1,90	0,971	2,90	0,998
0,95	0,829	1,95	0,974	2,95	0,998

El valor Φ para valores negativos de x se calcula en la tabla como

$$1 - \Phi(-x)$$

8 GLOSARIO DE SÍMBOLOS

a = Intersección de la línea de regresión de la respuesta con respecto a las dosis o al ln (dosis)

b = Pendiente de la línea de regresión de la respuesta con respecto a las dosis o al ln (dosis)

d = Número de niveles de dosis para cada preparación (excepto el blanco de los ensayos de relación de pendientes)

e = Base de los logaritmos naturales (= 2,71828182845905...)

g = Estadístico usado en el teorema de Fieller: $g = C - 1/C$

gl = Grados de libertad

h = Número de preparaciones de un ensayo incluyendo la preparación estándar
 m = Potencia estimada obtenida como una relación de efectos en los modelos lineales generales
 n = Número de replicados de cada tratamiento
 n' = Numero de ensayos
 p = Probabilidad de que un estadístico dado sea mayor que el valor observado. También se utiliza como el cociente r/n en análisis de probitos
 r = Número de unidades con respuesta por grupo de tratamiento, en ensayos que dependen de respuestas cuantales
 s = Estimación de la desviación estándar = $\sqrt{s^2}$
 s^2 = Estimación de la varianza residual dada por el cuadrado medio del error en análisis de varianza
 t = Estadístico de Student (*Tabla 7.2.*)
 v_{11}, v_{12}, v_{22} = Multiplicadores de (co)varianza para el numerador y el denominador del cociente m en el teorema de Fieller
 w = Coeficiente de ponderación
 x = ln (dosis)
 y = Respuesta individual o respuesta transformada
 A = Potencias asumidas de las preparaciones a ensayar cuando se preparan las dosis
 B = Respuesta media de los blancos en los ensayos de relación de pendiente
 C = Estadístico usado en el cálculo de intervalos de confianza: $C=1/1 - g$
 C_1, \dots, C_n = Respuesta media de cada columna en el diseño de cuadrado latino
 D_1, D_2 = Respuesta media a tiempo 1 o a tiempo 2 en el diseño cruzado doble
 F = Relación de dos estimaciones independientes de varianza que sigue una distribución F (*Tabla 7.1*)
 $G_S, G_{T..}$ = Valores de los tratamientos utilizados en el análisis de varianza para ensayos de relación de pendientes
 H_p, H_L = Multiplicadores utilizados en el análisis de varianza para ensayos de líneas paralelas
 H_B, H_I = Multiplicadores utilizados en el análisis de varianza para ensayos de relación de pendientes
 I = En ensayos de líneas paralelas, ln del cociente entre dosis adyacentes. En ensayos de relación de pendientes, el intervalo entre dosis adyacentes
 J_S, J_T = Valores de linealidad utilizados en el análisis de varianza para ensayos de relación de pendientes
 K = Término de corrección usado en el cálculo de sumas de cuadrados en el análisis de varianzas
 L = Logaritmo de la longitud del intervalo de confianza
 L_S, L_T, \dots = Contrastes lineales del estándar y de las preparaciones ensayadas
 M = Logaritmo de la relación de potencia para una preparación ensayada
 N = Número total de tratamientos en el ensayo (= dh)
 $P_S, P_{T..}$ = Suma de las respuestas medias del estándar ($S_1 + S_2 + \dots + S_d$) y de cada preparación ensayada
 R = Potencia estimada para una preparación ensayada
 R' = Relación de potencia para una preparación ensayada
 R_1, \dots, R_n = Respuesta media de cada fila l a n en un diseño de cuadrado latino o de cada bloque en un diseño de bloques aleatorizados
 S = Preparación estándar

S_1, \dots, S_d = Respuesta media a la dosis más baja 1, hasta la más alta d , de la preparación estándar S

SC = Suma de cuadrados debida a la fuente de variación dada

$T, U, V \dots$ = Preparaciones a ensayar

T_1, \dots, T_d = Respuesta media a la dosis más baja 1, hasta la más alta d , de la preparación a ensayar T

V = Coeficiente de varianza en el cálculo de los límites de confianza

W = Factor de ponderación en la combinación de resultados del ensayo

X = Estructura lineal o matriz del diseño usado en modelos lineales generales

Y, Y' = Vector que representa las respuestas (transformadas) en modelos lineales generales

Z = La primera derivada de Φ

$\pi = 3,141592653589793238 \dots$

Φ = Función de distribución normal estándar acumulada (*Tabla 7.4*)

χ^2 = Estadístico Chi-cuadrado (*Tabla 7.3*)

20. ANÁLISIS TÉRMICO

Las Técnicas Termoanalíticas se basan en el calentamiento o enfriamiento de muestras a velocidades programables o en condiciones isotérmicas, dentro de rangos de temperatura y atmósferas (aire, nitrógeno, etc.) adecuados. Estos procesos, a través de las transiciones, cambios de estado, interacciones que en ellos se produjeran, etc., permiten obtener información cuali y cuantitativa sobre propiedades de las sustancias y características de las muestras, tales como: estados cristalinos y amorfos, temperatura de fusión, calor específico, pureza, estabilidad, composición y transformaciones polimórficas, composición isomérica, transiciones vítreas, sublimación, interacciones sólido – sólido, etc.. Algunas de estas

propiedades contribuyen corrientemente a la identificación de sustancias.

Estas técnicas tienen las ventajas de utilizar pequeñas cantidades de muestra (del orden del miligramo) que se utilizan frecuentemente sin tratamiento previo y de poseer alta sensibilidad, precisión y exactitud.

Las técnicas de Análisis Térmico que se emplean con mayor frecuencia son: la Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB), el Análisis Térmico Diferencial (ATD), el Análisis Termogravimétrico (ATG), el Análisis Termomecánico (ATM) y la Microscopía de Platina Calentable (MPC). Las propiedades medidas por estas técnicas se indican en la *Tabla 1*.

Tabla 1.

Técnica	Propiedad medida/estudiada
CDB	cambios de energía (absorción o liberación de calor)
ATD	diferencia de temperaturas entre muestra y referencia
ATG	masa (variación en el peso de la muestra)
ATM	deformación (variación en las dimensiones físicas)
MPC	cambios visuales (morfológicos o de color)

Durante los análisis, las propiedades medidas por cada método son registradas en función de la temperatura y/o el tiempo, permitiendo, para las cuatro primeras técnicas presentadas, la visualización de los barridos en gráficos cuya interpretación contribuye en gran medida a la elaboración de las conclusiones.

La información producida por los gráficos antedichos, se resume en la *Tabla 2*, excepto para el Análisis Térmico Diferencial, cuyas aplicaciones varían según las características de los aparatos.

Tabla 2.

Información	CDB	ATG	ATM
Calor específico	SI		
Temperatura de fusión	SI		en polímeros
Calor de fusión, cristalinidad	SI		
Evolución de la fusión, fracción líquida	SI		
Análisis de la composición	SI	SI	
Identificación y pureza de cristales (material no polimérico)	SI	SI	
Evaporación, desorción, secado, sublimación	SI	SI	
Polimorfismo	SI		SI
Pseudopolimorfismo	SI	SI	
Calores de transición	SI		
Transiciones polimórficas	SI		
Mesofases en cristales líquidos	SI		
Transiciones vítreas, suavizado	SI		SI
Estabilidad y descomposición térmica, pirólisis, despolimerización	SI	SI	SI
Análisis de productos de descomposición gaseosos liberados (por asociación con otros equipos)		SI	

Coefficiente de expansión lineal			SI
Comportamiento viscoelástico			SI
Compatibilidad de sustancias entre sí y de sustancias con el material de empaque	SI	SI	en polímeros
Polimerización, curado	SI		SI
Cinética de reacción	SI		SI

Dado que los resultados dependen en ciertos casos de las condiciones bajo las cuales se realizaron los ensayos, es necesario incluir en cada registro térmico una descripción completa de las mismas, entre las que se encuentran: marca y modelo del aparato, tamaño e identificación de la muestra, material, capacidad y estado del crisol empleado para contener la muestra, programa de temperaturas, composición y caudal del gas empleado, presión del sistema y sensibilidad de las determinaciones.

Calorimetría diferencial de Barrido (CDB)

La técnica se basa en mantener iguales las temperaturas de la muestra y la referencia cuando se someten ambas a procesos de calentamiento o enfriamiento (dinámicos, isotérmicos o ambos combinados). El procedimiento se realiza en un horno provisto de un sensor de alta sensibilidad, donde se ubican tanto el crisol con la muestra, como el crisol de referencia, vacío. Dado que las transiciones físicas y las reacciones químicas de las muestras van siempre acompañadas de absorciones o desprendimientos de energía adicionales a los mencionados procesos, es función del equipo medir las diferencias de flujo de calor necesarias para mantener en todo momento la misma temperatura en ambos crisoles.

Determinación de Pureza (análisis de impurezas eutécticas) -

La fusión de un compuesto cristalino puro debe producirse dentro de un intervalo de temperatura muy reducido, correspondiente a la temperatura de fusión T_0 , pero la presencia de *impurezas eutécticas* (aquellas solubles en la fase líquida formada durante la fusión, pero no en la fase sólida del componente principal) expande el mencionado intervalo y produce un descenso en la temperatura de finalización de la fusión (Punto de Fusión). Las determinaciones de pureza a través de DSC se basan en la relación entre el descenso del Punto de Fusión y la cantidad de *impurezas eutécticas*, lo cual tiene su expresión matemática a través de la Ley de Van't Hoff en su forma simplificada (1), que permite predecir el efecto de las impurezas sobre T_m :

$$T_m = T_0 - \frac{RT_0^2}{\Delta H_f} x_2 \frac{1}{F}$$

en la cual:

T_m = temperatura de la muestra en cualquier punto de equilibrio durante la fusión (en °K)

T_0 = temperatura de fusión del componente principal puro (en °K)

R = constante de los gases (8,134 J/°K mol)

ΔH_f = calor molar de fusión de la muestra

x_2 = fracción molar de la impureza eutéctica en la muestra completamente fundida

F = fracción fundida

Esta ecuación permite obtener parámetros de fusión tales como:

T_f , Temperatura de Fusión (Punto de Fusión), cuando $F = 1$

T_0 , surge de la extrapolación de la función cuando $x_2 = 0$

ΔH_f , surge de la integración del área de la endoterma de fusión

y permite además calcular la Pureza Eutéctica

Pureza Eutéctica = $(1 - x_2) 100$ moles %
(sobre sustancia tal cual)

En la fórmula anterior se observa que la disminución del punto de fusión es directamente proporcional a la fracción molar de la impureza.

Los resultados de estas determinaciones son suficientemente exactos cuando las impurezas no exceden aproximadamente el 1,5% en moles. Las *impurezas* de síntesis y de degradación, entre otras, guardan cierta similitud con el producto final y generalmente no presentan problemas de solubilidad en el material fundido, siendo, en estos casos, a través de un comportamiento eutéctico, globalmente cuantificables por esta técnica

Las *impurezas no eutécticas* no son evaluables a través de CDB. Su efecto puede ser incluso el de aumentar el punto de fusión. Ejemplos de *impurezas no eutécticas* son los cristales mixtos y las soluciones sólidas.

A las sustancias que presentan simultáneamente más de un *estado polimórfico* no se les determina la pureza, a menos que se conviertan completamente en la modificación estable durante la fusión.

El análisis de pureza no debe aplicarse a muestras que funden presentando simultáneamente fenómenos de evaporación y/o descomposición.

Polimorfismo -

Las técnicas de CDB y de ATD son particularmente útiles para detectar y caracterizar el *polimorfismo* (capacidad de una molécula de formar distintas estructuras al estado sólido), dado que registran los cambios de entalpía producidos por las transformaciones sólido-sólido, las fusiones y las recristalizaciones. Esas diferentes estructuras internas que presenta gran parte de las moléculas, pueden corresponder a diferentes Puntos de Fusión, solubilidades, reactividades químicas, estabildades, etc., lo cual puede a su vez impactar en propiedades farmacéuticas tales como velocidad de disolución y biodisponibilidad.

Polímeros -

La posibilidad de detectar y evaluar temperaturas de transiciones vítreas, fusiones, recristalizaciones, calores específicos, grado de polimerización, curado etc., le confiere a esta técnica una particular utilidad en el análisis de *polímeros*, lo cual se refleja en la utilidad que presta en el desarrollo y control de la Industria Farmacéutica.

Análisis Térmico Diferencial (ATD)

Este análisis mide la diferencia de temperatura entre la muestra en ensayo y una referencia inerte (crisol de referencia), ambas calentadas bajo las mismas condiciones, mientras que la CDB permite cuantificar las absorciones y desprendimientos de calor. Actualmente, de los análisis de ATD también pueden obtenerse resultados calorimétricos cuantificables que permiten aplicarlo también, como se ha mencionado, en áreas en las que presta especial utilidad la CDB, como las de *polimorfismo* y *polímeros*.

Análisis termogravimétrico (ATG)

Este análisis registra el peso de la muestra en función de la temperatura o del tiempo de calentamiento, mediante el empleo de una termobalanza. Incluye programas de calentamiento dinámico, de temperatura fija (proceso isotérmico) o mezclas de ambos. Suministra más información que la pérdida por secado a una temperatura determinada, ya que detecta las temperaturas a las que se desprenden las sustancias volátiles retenidas, además de cuantificar los respectivos desprendimientos.

Muchas sustancias tienen la capacidad de formar hidratos y/o solvatos. En los primeros, el agua está presente no sólo en su superficie como

humedad, sino también en el cristal. Esta propiedad, conocida como *pseudopolimorfismo*, puede conducir a complejos procesos de fusión.

A través de este análisis, especialmente cuando está combinado con CDB, es generalmente posible distinguir entre la pérdida de solvente adsorbido en la superficie, la pérdida de solvente ocluido en el cristal y las pérdidas de masa producidas por descomposición de la sustancia.

Las mediciones se llevan a cabo bajo el flujo programado de un gas apropiado. El cálculo de la pérdida porcentual G, se efectúa a través de la fórmula siguiente:

$$G (\% \text{ de pérdida}) = 100 \Delta m/m_0$$

en la cual Δm es la pérdida de masa y m_0 es el peso inicial de la muestra.

Dado que el Análisis Termogravimétrico no identifica específicamente los productos de reacción, pueden analizarse los gases desprendidos trabajando en combinación con técnicas tales como la Espectrometría de Masa o la Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier.

Los equipos constan de una microbalanza asociada a una fuente de calor programable. Estos difieren, principalmente, en el intervalo de masas aceptable para las muestras a analizar y las formas de detección de la temperatura y de la masa de la muestra.

Análisis Termomecánico (ATM)

Este análisis mide los cambios dimensionales (dilatación o contracción) de una muestra expuesta o no a la acción de pequeñas cargas, en función de la temperatura o el tiempo. Se utiliza fundamentalmente en polímeros, por lo cual su relevancia en la Industria Farmacéutica se basa en su aplicación a sistemas de liberación poliméricos, envases y prótesis médicas. Además de permitir la detección de transiciones vítreas, es importante en el cálculo de Coeficientes de expansión y de Conversión.

Microscopía de platina calentable

Esta técnica reúne la visualización de la muestra a través de un microscopio en paralelo a la posibilidad de programar el calentamiento y/o el enfriamiento de la misma.

Ventajas que presenta:

- visualizar, para su estudio, los procesos de fusión y cristalización.
- detectar, durante el calentamiento o el enfriamiento, procesos que generan pequeños o ningún cambio de entalpía (cambios morfológicos y de color).

- contribuir a la interpretación de señales o picos que aparecen en otras técnicas de Análisis Térmico asociados con transiciones térmicas, en particular las polimórficas.
-
- detección de cristales birrefringentes a través del uso de luz polarizada, lo cual es de especial interés en el estudio del polimorfismo utilizando la técnica de formación de “films cristalinos”.

70. CONDUCTIVIDAD

La resistividad eléctrica ρ de una solución acuosa es por definición la resistencia en corriente alterna medida en ohms entre las caras opuestas de un cubo de un centímetro de lado de una solución acuosa a una temperatura especificada.

La conductividad κ , de una solución es por definición la función inversa de la resistividad ρ . La resistencia R , de un conductor de sección transversal A , y longitud L , está dada por la siguiente expresión:

$$R = \rho \frac{L}{A}$$

o sea,

$$R = \frac{1}{\kappa} \frac{L}{A} \quad \text{ó} \quad \kappa = \frac{1}{R} \frac{L}{A}$$

La unidad de conductividad en el Sistema Internacional es el siemens por metro (S m^{-1}). En la práctica la conductividad eléctrica de una solución se expresa en siemens por centímetro (S cm^{-1}) o en microsiemens por centímetro ($\mu\text{S cm}^{-1}$). La unidad de resistividad en el Sistema Internacional es el ohm por metro ($\Omega \text{ m}$) y para el caso de la resistividad de soluciones es el ohm por centímetro ($\Omega \text{ cm}$). A menos que se especifique de otro modo, la temperatura para la expresión de la conductividad o la resistividad es de $25,0^\circ\text{C}$ y debe estabilizarse dentro de $\pm 0,1^\circ\text{C}$.

Aparato - Emplear un instrumento que puede ser un puente Wheatstone de operación manual o equivalente, o un instrumento de medición de lectura directa analógica o digital, el cual mide la resistencia de una columna de líquido entre los electrodos de un dispositivo de medida sumergido (celda conductimétrica).

El aparato se provee con corriente alterna para evitar los efectos de polarización del electrodo y está equipado con un dispositivo de compensación de temperatura o un termómetro de precisión.

La celda conductimétrica contiene dos electrodos paralelos de platino, recubiertos con

negro de platino, cada uno con un área A , y separados uno de otro por una distancia L . Ambos están generalmente protegidos por un tubo de vidrio que permite un buen intercambio entre la solución y los electrodos.

Las celdas de platino con negro de platino no deben usarse para la medición de conductividades por debajo de $10 \mu\text{S cm}^{-1}$ a menos que pueda usarse una celda con sólo trazas de negro de platino para mediciones entre $0,1$ y $10 \mu\text{S cm}^{-1}$; las celdas para las mediciones en este rango deben reservarse con exclusividad para este uso.

Debe considerarse la influencia de dióxido de carbono presente en el aire al medir aguas de muy baja conductividad ya que éste puede producir un aumento significativo de la conductividad medida al disolverse en el agua. Donde sea posible, debe evitarse el contacto del aire con el agua de baja conductividad mediante celdas de flujo o bien aislando la superficie expuesta mediante gases inertes químicamente puros, tales como el nitrógeno o el helio.

La constante C , de la celda conductimétrica se expresa en cm^{-1} de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$C = \alpha \frac{L}{A}$$

en la cual α es un coeficiente adimensional característico del diseño de la celda.

Preparación de soluciones estándar

Solución estándar A - Preparar una solución que contenga $0,7440 \text{ g}$ de cloruro de potasio por cada litro de solución a 20°C , empleando agua libre de dióxido de carbono, preparada con agua cuya conductividad no excede de $2 \mu\text{S cm}^{-1}$.

Solución estándar B - Diluir 100 ml de la Solución estándar A a 1 litro a 20°C .

La conductividad de las dos soluciones estándar de cloruro de potasio, a las temperaturas de 0°C , 18°C y 25°C se indican en la Tabla.

Tabla.

<u>Solución estándar</u>	<u>Normalidad aproximada de la solución</u>	<u>Temperatura °C</u>	<u>Conductividad $\mu\text{S cm}^{-1}$</u>
<u>A</u>	<u>0,01</u>	<u>0</u>	<u>773,6</u>
		<u>18</u>	<u>1.220,5</u>
		<u>25</u>	<u>1.408,8</u>
<u>B</u>	<u>0,001</u>	<u>0</u>	<u>77,69</u>
		<u>18</u>	<u>127,54</u>
		<u>25</u>	<u>146,93</u>

Las conductividades indicadas de la *Tabla* no incluyen la conductividad del agua usada para preparar las soluciones.

Procedimiento

Determinación de la constante de la celda – Elegir una celda conductimétrica apropiada para la conductividad de la solución muestra a medir. Cuanto mayor sea la conductividad esperada, mayor debe ser la constante de la celda elegida (baja ρ), para que el valor de R medido sea tan grande como sea posible para el aparato empleado. Las celdas conductimétricas comúnmente empleadas, tienen una constante del orden de 0,1; 1 y 10 cm^{-1} . Emplear una solución estándar de cloruro de potasio apropiada. Enjuagar varias veces la celda con agua libre de dióxido de carbono, y al menos dos veces con la solución estándar de cloruro de potasio empleada para determinar la constante de la celda conductimétrica. Medir la resistencia de la celda conductimétrica con la solución estándar de cloruro de potasio a $25,0 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$ o a la temperatura especificada en la monografía correspondiente. Repetir la medición con porciones

adicionales de la solución estándar de cloruro de potasio hasta que el valor obtenido permanezca constante. La constante de la celda conductimétrica C , en cm^{-1} , está dada por la expresión:

$$C = R_{KCl} \kappa_{KCl}$$

en la cual R_{KCl} es la resistencia medida, en megohms, y κ_{KCl} es la conductividad de la solución estándar de cloruro de potasio empleada, expresada en $\mu\text{S cm}^{-1}$.

La medida de la constante de la celda conductimétrica C , deberá estar comprendida dentro del $\pm 2 \%$ del valor indicado.

Determinación de la conductividad de la solución a ensayar - Luego de calibrar el aparato con una de las soluciones estándar, enjuagar la celda conductimétrica varias veces con agua libre de dióxido de carbono y al menos dos veces con la solución muestra a $25,0 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$ o a la temperatura especificada en la monografía correspondiente. Proceder con las sucesivas mediciones según como se especifique en la monografía correspondiente.

75. CONDUCTIVIDAD EN AGUA CALIDAD FARMACÉUTICA

En este ensayo se incluyen dos etapas preliminares. Si las condiciones de ensayo y los límites de conductividad se cumplen en cualquiera de las etapas preliminares, el Agua Calidad Farmacéutica cumple con los requisitos del ensayo cuando se especifique en la monografía. En estas circunstancias es innecesario proceder con la tercera etapa. La muestra no cumple con los requisitos del ensayo sólo si no cumple con la tercera etapa.

Procedimiento

ETAPA 1

1. Determinar la temperatura y la conductividad del agua realizando una lectura de conductividad no compensada por temperatura. La medida puede llevarse a cabo en un recipiente apropiado o como una medida en línea.

2. Empleando la *Tabla 1. Etapa 1. Requisitos de conductividad y temperatura*, encontrar el valor de temperatura inmediata inferior a la temperatura medida. El valor de conductividad correspondiente es el límite a esa temperatura.

3. Si la conductividad medida no es mayor que el valor de la *Tabla 1*, el agua cumple los requisitos del ensayo de conductividad. Si la conductividad es mayor que el valor indicado en la *Tabla 1*, proceder con la *Etapa 2*.

ETAPA 2

4. Transferir una cantidad suficiente de agua (100 ml o más) a un envase apropiado y agitar. Ajustar la temperatura, si fuera necesario, y mientras se la

mantiene a 25 ± 1 °C, comenzar a agitar vigorosamente la muestra y observar periódicamente la conductividad. Cuando el cambio en la conductividad (debido a la captación del dióxido de carbono atmosférico) es menor que el valor neto de $0,1 \mu\text{S}/\text{cm}$ durante 5 minutos, registrar la conductividad.

5. Si la conductividad no es mayor que $2,1 \mu\text{S}/\text{cm}$, el agua cumple con los requisitos del ensayo de conductividad. Si la conductividad es mayor que $2,1 \mu\text{S}/\text{cm}$, proceder con la *Etapa 3*.

ETAPA 3

6. Realizar este ensayo dentro de los 5 minutos aproximadamente de la determinación de la conductividad en el *Paso 5*, mientras se mantiene la temperatura de la muestra a 25 ± 1 °C. Agregar una solución saturada de cloruro de potasio a la misma muestra de agua (0,3 ml por cada 100 ml de muestra), y determinar el pH con una exactitud de 0,1 unidades de pH, según se indica en 250. *Determinación del pH*.

7. Empleando la *Tabla 2. Etapa 3. Requisitos de conductividad y pH*, determinar el límite de la conductividad al valor de pH medido. Si la conductividad medida en el *Paso 4* no es mayor que los requisitos de conductividad para el pH determinado en el *Paso 6*, el agua cumple con los requisitos para el ensayo de conductividad. Si la conductividad medida es mayor que este valor o el pH se encuentra fuera del intervalo entre 5,0 y 7,0, el agua no cumple con los requisitos para el ensayo de conductividad.

Tabla 1. Etapa 1. Requisitos de conductividad y temperatura (para medidas de conductividad no compensada por temperatura)

Temperatura (°C)	Requisito de conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$)*
0	0,6
5	0,8
10	0,9
15	1,0
20	1,1
25	1,3
30	1,4
35	1,5
40	1,7
45	1,8
50	1,9

55	2,1
60	2,2
65	2,4
70	2,5
75	2,7
80	2,7
85	2,7
90	2,7
95	2,9
100	3,1

* $\mu\text{S/cm}$ (microSiemen por centímetro) = $\mu\text{mho/cm}$ = recíproco de Megaohm-cm.

Tabla 2. Etapa 3. Requisitos de conductividad y pH
(para muestras equilibradas con la atmósfera y con la temperatura)

pH	Requisito de conductividad ($\mu\text{S/cm}$)*
5,0	4,7
5,1	4,1
5,2	3,6
5,3	3,3
5,4	3,0
5,5	2,8
5,6	2,6
5,7	2,5
5,8	2,4
5,9	2,4
6,0	2,4
6,1	2,4
6,2	2,5
6,3	2,4
6,4	2,3
6,5	2,2
6,6	2,1
6,7	2,6
6,8	3,1
6,9	3,8
7,0	4,6

* $\mu\text{S/cm}$ (microSiemen por centímetro) = $\mu\text{mho/cm}$ = recíproco de Megaohm-cm.

90. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTOS NO OBLIGATORIAMENTE ESTÉRILES

En este capítulo se especifican los ensayos necesarios para estimar el número de microorganismos viables presentes, determinar ausencia de gérmenes revivificables y de ciertas especies microbianas en cualquier tipo de materia prima o producto farmacéutico no obligatoriamente estéril.

A menos que se especifique de otro modo, el término incubar implica colocar el recipiente en aire termostáticamente controlado a las temperaturas y períodos de tiempo especificados oportunamente.

PREPARACIÓN MUESTRA

Preparar la muestra a ensayar mediante un tratamiento que se ajuste a sus características físicas y que no altere el número y tipo de microorganismos originalmente presentes, a fin de obtener una solución o suspensión apropiada.

En el caso de líquidos, soluciones verdaderas, suspensiones en agua o en un vehículo hidroalcohólico que contenga menos de 30 % de alcohol y en el caso de un sólido que se disuelve en *Solución reguladora de fosfato pH 7,2* o en el medio especificado proceder según se indica en *Recuento de microorganismos aerobios totales, Recuento combinado de hongos filamentosos y levaduras y Ensayos para investigar la presencia de microorganismos específicos*.

En el caso de líquidos no miscibles en agua, como ungüentos, cremas y ceras, preparar una suspensión con la ayuda de una cantidad mínima de un agente emulsionante estéril apropiado (por ej: polisorbato), mezclar y, si fuera necesario, calentar a temperatura menor o igual a 45 °C. Proceder según se indica en *Recuento de microorganismos aerobios totales, Recuento combinado de hongos filamentosos y levaduras y Ensayos para investigar la presencia de microorganismos específicos*.

En el caso de sólidos que no se disuelven por completo, reducir la muestra a polvo moderadamente fino, suspender en el vehículo adecuado y proceder según se indica en *Recuento de microorganismos aerobios totales, Recuento combinado de hongos filamentosos y levaduras y Ensayos para investigar la presencia de microorganismos específicos*.

En el caso de aerosoles líquidos, transferir asepticamente el producto a un aparato de filtro de membrana o a un envase estéril para el muestreo adicional. Utilizar el contenido total o un número definido de dosis medidas de cada uno de los envases probados, suspender en el vehículo adecuado y

proceder según se indica en *Recuento de microorganismos aerobios totales, Recuento combinado de hongos filamentosos y levaduras y Ensayos para investigar la presencia de microorganismos específicos*.

En el caso de parches transdérmicos, quitar las hojas de la cubierta protectora de los parches y colocar el lado adhesivo hacia arriba sobre una placa estéril. Cubrir la superficie adhesiva con un material poroso estéril (ej: gasa estéril) para evitar que los parches se adhieran. Transferir los parches a un volumen conveniente del diluyente elegido que contiene inactivadores tales como polisorbato y/o lecitina. Agitar vigorosamente la preparación por no menos de 30 minutos. Proceder según se indica en *Recuento de microorganismos aerobios totales, Recuento combinado de hongos filamentosos y levaduras y Ensayos para investigar la presencia de microorganismos específicos*.

SOLUCIÓN REGULADORA Y MEDIOS DE CULTIVO

Solución reguladora de fosfato pH 7,2

Transferir 34 g de fosfato monobásico de potasio a un matraz aforado de 1 litro y disolver en aproximadamente 500 ml de agua. Agregar aproximadamente 175 ml de hidróxido de sodio (SR) para ajustar a pH $7,2 \pm 0,1$, completar a volumen con agua y mezclar. Fraccionar y esterilizar. Almacenar en un ambiente refrigerado. Para usar, diluir esta solución con agua en una proporción de 1 en 800 y esterilizar.

Medios de Cultivo

Pueden emplearse medios de cultivo listos para usar, deshidratados reconstituidos según indicación del elaborador o prepararse según se indica en este capítulo.

Al preparar el medio de cultivo con las fórmulas aquí indicadas, se deben disolver los sólidos solubles en agua, empleando calor si fuera necesario, para obtener la disolución total y agregar soluciones de ácido clorhídrico o hidróxido de sodio en cantidades suficientes hasta alcanzar el pH deseado. Determinar el pH a 25 ± 2 °C.

Si en una fórmula se indica agar, se debe emplear uno con un contenido de humedad menor o igual a 15 %.

Antes de esterilizar el medio agarizado se debe hidratar a temperatura ambiente y fundir para evitar la formación de grumos y favorecer su homogeneización. Salvo que se indique lo contrario, todos los

medios de cultivo deben ser esterilizados, según indicaciones del fabricante, en autoclave en ciclos validados.

I. Agar Digerido de Caseína-Soja

Digerido pancreático de caseína.....	15,0 g
Digerido papaínico de soja.....	5,0 g
Cloruro de sodio.....	5,0 g
Agar.....	15,0 g
Agua.....	1000 ml
pH después de la esterilización: 7,3 ± 0,2	

II. Agar Papa-Dextrosa

Cocer 300 g de papas peladas y cortadas en rodajas en 500 ml de agua. Filtrar a través de gasa, agregar agua en cantidad suficiente para obtener 1000 ml y agregar:

Agar.....	15,0 g
Glucosa.....	20,0 g
pH después de la esterilización: 5,6 ± 0,2	

Disolver por calentamiento y esterilizar.

Antes de verter en las placas, ajustar el medio fundido y enfriado a 45 °C con solución estéril de ácido tartárico (1 en 10) a pH 3,5 ± 0,1. No volver a calentar el medio.

III. Agar Sabouraud-Dextrosa

Glucosa.....	40,0 g
Mezcla de partes iguales de digerido péptico de carne y digerido pancreático de caseína.....	10,0 g
Agar.....	15,0 g
Agua.....	1000 ml
pH después de la esterilización: 5,6 ± 0,2	

Mezclar y calentar a ebullición para facilitar la disolución.

IV. Agar Cristal Violeta-Rojo Neutro-Bilis-Glucosa

Digerido pancreático de gelatina.....	7,0 g
Extracto de levadura	3,0 g
Cloruro de sodio	5,0 g
Glucosa monohidrato.....	10,0 g
Mezcla de sales biliares.....	1,5 g
Rojo neutro	30,0 mg
Cristal violeta.....	2,0 mg
Agar.....	15,0 g
Agua.....	1000ml
pH final: 7,4 ± 0,2	

Disolver y calentar durante 30 minutos a vapor fluente. No esterilizar en autoclave.

V. Agar Cetrimida

Digerido pancreático de gelatina.....	20,0 g
Cloruro de magnesio.....	1,4 g
Sulfato de potasio.....	10,0 g
Agar.....	13,6 g
Bromuro de cetiltrimetilamonio (cetrimida).....	0,3 g
Glicerina.....	10 ml
Agua.....	1000 ml
pH después de la esterilización: 7,2 ± 0,2	

Disolver los componentes sólidos en agua y agregar la glicerina. Calentar a ebullición durante 1 minuto agitando frecuentemente para facilitar la disolución.

VI. Agar Columbia con gentamicina

Digerido pancreático de caseína.....	10,0 g
Digerido péptico de carne.....	5,0 g
Digerido pancreático de corazón	3,0 g
Extracto de levadura.....	5,0 g
Almidón de maíz.....	1,0 g
Cloruro de sodio.....	5,0 g
Agar, de acuerdo con la capacidad de gelificación	10,0 a 15,0 g
Agua.....	1000 ml
pH después de la esterilización: 7,3 ± 0,2	

Hidratar el agar y disolver calentando hasta ebullición y revolviendo completamente. Dejar enfriar a 45 – 50 °C, agregar, cuando sea necesario, sulfato de gentamicina correspondiente a 20 mg de gentamicina base y verter en placas de Petri.

VII. Agar Manitol-Salado

Digerido pancreático de caseína.....	5,0 g
Digerido péptico de carne.....	5,0 g
Extracto de carne	1,0 g
D-Manitol.....	10,0 g
Cloruro de sodio.....	75,0 g
Agar	15,0 g
Rojo de fenol.....	25,0 mg
Agua.....	1000 ml
pH después de la esterilización: 7,4 ± 0,2	

Mezclar y luego calentar agitando frecuentemente. Calentar a ebullición durante 1 minuto hasta lograr la disolución.

VIII. Agar Mac Conkey

Digerido pancreático de gelatina.....	17,0 g
Digerido pancreático de caseína.....	1,5 g
Digerido péptico de carne.....	1,5 g
Lactosa monohidrato.....	10,0 g
Mezcla de sales biliares.....	1,5 g
Cloruro de sodio.....	5,0 g
Agar.....	13,5 g
Rojo neutro.....	30,0 mg
Cristal violeta.....	1,0 mg
Agua.....	1000 ml

pH después de la esterilización: 7,1 ± 0,2

Calentar la mezcla de todos los componentes y el agua hasta ebullición y seguir calentando durante 1 minuto para facilitar la disolución.

IX. Agar Sulfito-Polimixina-Sulfadiacina

Peptona de caseína.....	15,0 g
Extracto de levadura.....	10,0 g
Citrato férrico.....	0,5 g
Sulfito de sodio.....	0,5 g
Polimixina B sulfato.....	10,0 mg
Sulfadiacina sódica.....	0,12 g
Agar.....	13,9 g
Agua.....	1000 ml

pH después de la esterilización: 7,0 ± 0,2

Disolver por calentamiento y esterilizar.

X. Agar Xilosa Lisina Desoxicolato

Xilosa.....	3,5 g
L-Lisina.....	5,0 g
Lactosa monohidrato.....	7,5 g
Sacarosa.....	7,5 g
Cloruro de sodio.....	5,0 g
Extracto de levadura.....	3,0 g
Rojo fenol.....	80,0 mg
Agar.....	13,5 g
Tiosulfato de sodio.....	6,8 g
Citrato férrico amónico.....	0,8 g
Desoxicolato de sodio.....	2,5 g
Agua.....	1000 ml

pH final: 7,4 ± 0,2

Disolver y calentar a ebullición por vapor fluyente. No esterilizar en autoclave. Enfriar hasta 50 °C y dispensar en placas de Petri.

XI. Caldo Digerido de Caseína-Soja

Digerido pancreático de caseína.....	17,0 g
Digerido papaínico de soja.....	3,0 g
Glucosa monohidrato.....	2,5 g
Fosfato dibásico de potasio.....	2,5 g
Cloruro de sodio.....	5,0 g
Agua.....	1000 ml

pH después de la esterilización: 7,3 ± 0,2

Disolver los componentes sólidos en el agua calentando suavemente. Enfriar la solución a temperatura ambiente y ajustar con hidróxido de sodio 1 N para obtener un pH de 7,3 ± 0,2. Filtrar, si fuera necesario, y envasar en recipientes apropiados.

XII. Caldo de Enriquecimiento de Mossel para Enterobacterias

Digerido pancreático de gelatina.....	10,0 g
Glucosa monohidrato.....	5,0 g
Bilis de buey deshidratada.....	20,0 g
Fosfato monobásico de potasio.....	2,0 g
Fosfato dibásico de sodio Dihidratado.....	8,0 g
Verde brillante.....	15,0 mg
Agua.....	1000 ml

pH final: 7,2 ± 0,2

Disolver y calentar durante 30 minutos a vapor fluyente. No esterilizar en autoclave. Enfriar inmediatamente.

XIII. Caldo Rappaport Vassiliadis para enriquecimiento de *Salmonella*

Peptona de soja.....	4,5 g
Cloruro de magnesio hexahidrato.....	29,0 g
Cloruro de sodio.....	8,0 g
Fosfato dibásico de potasio.....	0,4 g
Fosfato monobásico de potasio.....	0,6 g
Verde de malaquita.....	36,0 mg
Agua.....	1000 ml

pH después de la esterilización: 5,2 ± 0,2

Disolver calentando suavemente. Esterilizar a no más de 115 °C.

XIV. Caldo Sabouraud Dextrosa

Glucosa.....	20,0 g
--------------	--------

Mezcla de partes iguales de digerido péptico de carne y digerido pancreático de caseína..... 10,0 g
 Agua..... 1000 ml
 pH después de la esterilización: $5,6 \pm 0,2$

XV. Medio Reforzado para *Clostridios*

Extracto de carne..... 10,0 g
 Peptona..... 10,0 g
 Extracto de levadura..... 3,0 g
 Almidón soluble..... 1,0 g
 Glucosa monohidrato..... 5,0 g
 Clorhidrato de cisteína..... 0,5 g
 Cloruro de sodio..... 5,0 g
 Acetato de sodio..... 3,0 g
 Agar..... 0,5 g
 Agua..... 1000 ml
 pH después de la esterilización: $6,8 \pm 0,2$

Hidratar el agar y disolver calentando hasta ebullición revolviendo completamente.

XVI. Medio Tioglicolato

L-Cistina..... 0,5 g
 Agar (con menos de 15 % de humedad)..... 0,75 g
 Cloruro de sodio..... 2,5 g
 Glucosa monohidrato..... 5,5 g
 Extracto de levadura (soluble en agua)..... 5,0 g
 Digerido pancreático de caseína..... 15,0 g
 Tioglicolato de sodio*..... 0,5 g
 Solución de resazurina sódica (0,1 %), recién preparada..... 1,0 ml
 Agua..... 1000 ml
 pH después de la esterilización: $7,1 \pm 0,2$

Mezclar y calentar hasta disolución completa. Ajustar el pH del medio con hidróxido de sodio 1 N para obtener el pH indicado. Filtrar en caliente, si fuera necesario, a través de un papel de filtro humedecido. Distribuir el medio en recipientes de vidrio que mantenga una relación entre la superficie expuesta y la profundidad de medio tal que no más de la mitad superior experimente un cambio de color, indicativo de la fijación de oxígeno, al final del período de incubación. Tapar para evitar la contaminación y la evaporación excesiva del medio durante el almacenamiento. Enfriar inmediatamente luego de la esterilización.

* En caso de reemplazarse por ácido tioglicólico emplear 0,3 ml.

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN

Los productos farmacéuticos pueden ser vehículos de microorganismos que pueden producir enfermedades, alteraciones físico-químicas, disminución de la actividad terapéutica, o ser indicadores de calidad higiénica deficiente. Deben, por lo tanto, fijarse límites de aceptabilidad con el fin de garantizar la inocuidad y estabilidad del producto desde el punto de vista microbiológico. La *Tabla 1* indica los límites de aceptabilidad de acuerdo a la vía de administración.

Los límites microbianos de la *Tabla 1* deben interpretarse como:

- ufc significa que el recuento máximo aceptable es 20.
- ufc significa que el recuento máximo aceptable es 200.
- ufc significa que el recuento máximo aceptable es 2000.

En caso de detectarse microorganismos no especificados en la *Tabla 1*, se deberá evaluar su relevancia en función de la vía de administración, la naturaleza del producto y los pacientes a los cuales está destinado.

Los límites de aceptabilidad deben ser establecidos por personal especializado entrenado en microbiología, al igual que la realización de los ensayos, la interpretación y la evaluación de los resultados obtenidos.

MÉTODOS DE RECuento

En esta sección se especifican los ensayos necesarios para estimar el número de microorganismos aerobios viables presentes en cualquier tipo de materia prima o producto farmacéutico no obligatoriamente estéril.

En caso de no seguirse la metodología descrita en este capítulo, pueden ser utilizados otros procedimientos microbiológicos, incluidos los métodos automatizados, a condición de que su equivalencia al método de esta Farmacopea haya sido demostrada o validada según corresponda.

Ensayos preliminares

La validez de los resultados de los ensayos incluidos en este capítulo depende, en gran medida, de que se demuestre apropiadamente que las muestras sometidas a las condiciones del ensayo no inhiben la multiplicación de los microorganismos que pudieran estar presentes.

La efectividad de los medios de cultivo utilizados debe haber sido previamente verificada.

Promoción de crecimiento de los medios de cultivo

Analizar cada envase de medio de cultivo de manera de verificar la aptitud del mismo para su uso. Si el medio se prepara a partir de los ingredientes analizar todos los lotes elaborados. Si se trata de medios listos para usar, asegurar la calidad de los mismos.

Para medios sólidos, el crecimiento obtenido con los microorganismos de prueba (ver *Tabla 3*) no debe diferir en un factor de 2 respecto del obtenido con un envase previamente aprobado.

Los medios líquidos deben presentar evidencia visual de crecimiento dentro de los 3 días de incubación a 30 – 35 °C para bacterias y 5 días de incubación a 20 – 25 °C para hongos y levaduras.

El número de microorganismos a inocular debe ser próximo a 100 ufc.

Validez del método de recuento

Diluir la muestra en un diluyente apropiado de acuerdo a la técnica a ensayar. Agregar separadamente diluciones de cultivos de 24 horas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) y *Candida albicans* (ATCC 10231). Incluir *Escherichia coli* (ATCC 8739) en aquellos productos que en la *Tabla 1* no requieren ausencia de la misma y suspensiones de esporas de *Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404) y *Bacillus subtilis* (ATCC 6633).

Pueden utilizarse cepas aptas para tales fines pertenecientes a colecciones de cultivo microbianas reconocidas por la WFCC (World Federation of Culture Collections). El número de microorganismos a inocular debe ser tal que en cada placa de Petri el recuento final sea próximo a 100 ufc.

Siguiendo el método de estudio, realizar el recuento en presencia y ausencia de la muestra a ensayar. Incluir controles negativos de medios y diluyentes.

El recuento de los microorganismos ensayados con la muestra no debe diferir en un factor mayor de 2 respecto del hallado sin la muestra.

Cuando no se obtiene el criterio de aceptación establecido, modificar el método de ensayo de acuerdo a:

- aumentar el factor de dilución siempre que la especificación del producto o materia prima lo permita;
- agregar un antagonista adecuado (ver *Tabla 2*);
- otra modificación apropiada del método, diluyente o medio de cultivo;
- una combinación de los anteriores.

En caso de agregar una sustancia antagonista, o si se cambia la composición del diluyente o medio de cultivo, demostrar que dicha modificación no tiene efecto tóxico que afecte el desarrollo de los microorganismos de prueba.

Para demostrar la validez del método de recuento por filtración, la suspensión con los microorganismos se agrega en el último lavado, para evaluar la ausencia de sustancias inhibitorias en la membrana que puedan afectar su crecimiento.

En el recuento en placa, las suspensiones de las cepas de control se agregan en la dilución del producto. En caso de no cumplir el criterio de aceptación habiendo efectuado todas las modificaciones detalladas anteriormente, los microorganismos podrán inocularse directamente en la placa antes del agregado del medio sólido, para evaluar la remoción del agente inhibitorio.

Si no se encuentra un método de neutralización adecuado, puede suponerse que la imposibilidad de aislar el microorganismo inoculado es atribuible a la actividad microbicida del producto. Esta información permite deducir que no es probable que el producto se contamine con esa determinada especie de microorganismo.

Es posible que el producto inhiba solamente algunos microorganismos especificados en este capítulo pero que no inhiba otros no incluidos entre las cepas de prueba o aquellos para los cuales éstas no son representativas. En consecuencia, realizar la prueba con el factor de dilución más alto compatible con el crecimiento y el criterio de aceptación específico.

Recuento de microorganismos aerobios totales

Cuando sea posible su aplicación, el método de elección es el de Recuento en placa. En caso contrario se podrán utilizar los métodos por filtración o en tubos múltiples (número más probable - NMP).

Preparación de la muestra - Disolver o suspender 10 g o 10 ml de muestra en el diluyente definido en la *Validez del método de recuento*, para obtener una dilución 1:10 o la resultante de la Validez. Las diluciones así preparadas no deben dejarse más de 1 hora antes de completar el ensayo.

Siembra en profundidad -

Transferir 1 ml de la dilución final a cada una de dos placas de Petri estériles. Agregar inmediatamente a cada placa entre 15 y 20 ml del Agar Digerido de Caseína-Soja previamente fundido y enfriado a 45 °C. Tapar las placas de Petri, homogeneizar la muestra con el agar por rotación de las placas y dejar solidificar a temperatura ambiente. Invertir las placas de Petri e incubar a 30 - 35 °C durante no menos de 3 días. Luego de la incubación, examinar las placas para observar si hubo desarrollo. Contar el número de colonias y expresar el promedio para las dos placas en términos del número de unidades formadoras de colonias por g (ufc/g) o por ml de

muestra (ufc/ml). Si no se detectan colonias en las placas, expresar los resultados como menor a la inversa del valor de la dilución utilizada, por ejemplo para la dilución 1:10 se expresa como menor a 10 ufc/g o ml de muestra. Tener en cuenta que el resultado se debe expresar en función de la dilución y el volumen sembrado.

Siembra en superficie -

Sembrar en superficie no más de 0,1 ml de la dilución final sobre al menos dos placas con Agar Digerido de Caseína-Soja previamente secadas en incubadora o campana de flujo laminar. Incubar a 30 - 35 °C durante no menos de 3 días. Luego de la incubación, examinar las placas para observar si hubo desarrollo. Contar el número de colonias y expresar el promedio para las dos placas como el número de unidades formadoras de colonias por g (ufc/g) o por ml de muestra (ufc/ml). Si no se detectan colonias en las placas, expresar los resultados como menor a la inversa del valor de la dilución utilizada y el volumen sembrado.

Tubos múltiples (número más probable – NMP -

Agregar a cada uno de catorce tubos de ensayo de tamaño similar, 9 ml de Caldo Digerido de Caseína-Soja esterilizado. Distribuir doce de los tubos en cuatro grupos de tres tubos cada uno. Uno de los cuatro grupos servirá como control. Transferir 1 ml de la solución o suspensión de la muestra a cada uno de los tres tubos de un grupo (“100”) y a un cuarto tubo (A) y mezclar. Transferir 1 ml del contenido del tubo (A), al tubo restante (B) no incluido en ningún grupo y mezclar. Estos dos tubos contienen 0,1 g (ó 0,1 ml) y 0,01 g (ó 0,01 ml) de la muestra, respectivamente. Transferir 1 ml del contenido del tubo (A) a cada uno de los tres tubos del segundo grupo (0,01) y 1 ml del contenido del tubo (B) a cada uno de los tubos del tercer grupo (0,001). Descartar el contenido remanente de los tubos (A) y (B). Tapar e incubar todos los tubos a 30 - 35 °C no más de 3 días. Luego del período de incubación, examinar los tubos para detectar turbidez: los tres tubos controles deben permanecer sin desarrollo y los tubos que contienen la muestra deben compararse con la *Tabla 4* para determinar el NMP/g ó ml de producto. En caso que la turbidez de la muestra enmascare el desarrollo microbiano, subcultivar en el mismo caldo o en Agar Digerido de Caseína-Soja a 30 – 35 °C durante 24 a 48 horas.

Filtración -

Usar filtros de membrana con tamaño nominal de poro no mayor de 0,45 µm. Elegir el material de la membrana tal que la eficiencia de la retención microbiana no sea afectada por los componentes de la muestra. Transferir la cantidad apropiada de la dilución de muestra a una membrana y filtrar inme-

diatamente. Lavar el filtro según se haya determinado previamente. Transferir la membrana a la superficie de una placa conteniendo Agar Digerido de Caseína-Soja. Incubar a 30 – 35 °C durante no menos de 3 días. Calcular el número de ufc por g ó ml de producto.

En el caso de parches transdérmicos filtrar un volumen tal que la muestra filtrada corresponda a una unidad. Expresar el recuento como ufc / parche.

Informe de los resultados -

En los métodos de recuento en placa el número de microorganismos aerobios totales se informará como la sumatoria de todas las colonias desarrolladas en las placas de Agar Digerido de Caseína-Soja incluidos hongos filamentosos y levaduras.

Recuento combinado de hongos filamentosos y levaduras

Siembra en profundidad –

Proceder según se indica en *Recuento de microorganismos aerobios totales* empleando Agar Sabouraud Dextrosa o Agar Papa Dextrosa. Incubar las placas sin invertir, a 20 - 25 °C durante no menos de 5 días. Luego de la incubación, examinar las placas para observar si hubo desarrollo. Continuar según lo indicado en *Siembra en profundidad para recuento de microorganismos aerobios totales*.

Siembra en superficie -

Proceder según se indica en *Recuento de microorganismos aerobios totales*. Preparar al menos dos placas empleando Agar Sabouraud Dextrosa o Agar Papa Dextrosa para cada nivel de dilución, previamente secadas en incubadora o campana de flujo laminar. Sembrar en superficie no más de 0,1 ml sobre cada placa. Incubar a 20 – 25 °C durante no menos de 5 días. Luego de la incubación, examinar las placas para observar si hubo desarrollo. Continuar según se indica en *Siembra en profundidad para Recuento de microorganismos aerobios totales*, teniendo en cuenta el volumen sembrado.

Filtración -

Proceder según se indica en *Recuento de microorganismos aerobios totales*. Transferir la membrana a la superficie de una placa conteniendo Agar Sabouraud Dextrosa o Agar Papa Dextrosa. Incubar a 20 – 25 °C durante no menos de 5 días. Calcular el número de ufc por g ó ml de producto.

En el caso de parches transdérmicos filtrar un volumen tal que la muestra filtrada corresponda a una unidad. Expresar el recuento como ufc / parche.

Informe de los resultados -

En los métodos de recuento en placa el número de microorganismos aerobios totales se informará

como la sumatoria de todas las colonias desarrolladas en las placas de Agar Sabouraud Dextrosa o Agar Papa Dextrosa incluidas las bacterias.

ENSAYOS PARA LA INVESTIGACIÓN DE MICROORGANISMOS ESPECÍFICOS

En esta sección se especifican los ensayos necesarios para investigar los microorganismos especificados en la *Tabla 5* presentes en cualquier tipo de materia prima o producto farmacéutico no obligatoriamente estéril. En caso de no seguirse la metodología descrita en este capítulo, pueden ser utilizados otros procedimientos microbiológicos, incluidos los métodos automatizados, a condición de que su equivalencia al método de esta Farmacopea haya sido demostrada o validada según corresponda.

Ensayos preliminares

La validez de los resultados de los ensayos incluidos en este capítulo depende, en gran medida, de que se demuestre apropiadamente que las muestras sometidas a las condiciones del ensayo no inhiben la multiplicación de los microorganismos que pudieran estar presentes.

La efectividad de los medios de cultivo utilizados debe haber sido previamente verificada.

Promoción de crecimiento de los medios de cultivo

Analizar cada envase de medio de cultivo de manera de verificar la aptitud del mismo para su uso. Si el medio se prepara a partir de los ingredientes analizar todos los lotes elaborados. Si se trata de medios listos para usar, asegurar la calidad de los mismos.

Para medios sólidos diferenciales, el crecimiento obtenido con los microorganismos de prueba (ver *Tabla 5*) sembrados en superficie, no debe diferir en un factor mayor de 2 respecto del obtenido con un envase previamente aprobado. Puede reemplazarse por el método ecométrico o por el método Miles Misra. Las colonias desarrolladas deben mostrar las características típicas del microorganismo.

Los medios líquidos deben presentar evidencia visual de crecimiento dentro de los 3 días de incubación a 30 – 35 °C, o bien durante un tiempo no mayor que el período menor indicado en la prueba correspondiente considerando, la temperatura requerida por el mismo.

El número de microorganismos a inocular debe ser menor a 100 ufc.

Validez del método de investigación de microorganismos específicos

Diluir la muestra en un diluyente apropiado de acuerdo a la técnica a ensayar. Agregar una canti-

dad apropiada en Caldo Digerido de Caseína-Soya y/o Medio Fluido Tioglicolato. Agregar separadamente diluciones de cultivos de 24 horas de: *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Salmonella* entérica (ATCC 14028), *Clostridium sporogenes* (ATCC 19404 o ATCC 11437) y *Candida albicans* (ATCC 10231). Pueden utilizarse cepas aptas para tales fines pertenecientes a colecciones de cultivo microbianas reconocidas por la WFCC (World Federation of Culture Collections). El número de microorganismos a inocular debe ser menor a 100 ufc.

Siguiendo el método de estudio, realizar la investigación de la presencia del microorganismo inoculado. Incluir controles negativos de medios y diluyentes.

Cuando no se obtiene el criterio de aceptación establecido, modificar el método de ensayo de acuerdo a:

- aumentar el volumen de Caldo Digerido de Caseína-Soja y/o Medio Fluido Tioglicolato hasta un volumen máximo de 1000 ml,
- agregar un antagonista adecuado (ver *Tabla 2*),
- filtrar a través de membrana la dilución de la muestra y sumergir ésta en el Caldo Digerido de Caseína-Soja y/o Medio Fluido Tioglicolato, u
- otra modificación apropiada del método, diluyente o medio de cultivo.

En caso de agregar una sustancia antagonista, o si se cambia la composición del diluyente o medio de cultivo, demostrar que dicha modificación no tiene efecto tóxico que afecte el desarrollo de los microorganismos de prueba.

Ensayo para *Bacterias Gram negativas tolerantes a la bilis*

Disolver o suspender 10 g o 10 ml de muestra en Caldo Digerido de Caseína - Soja para obtener 100 ml o el volumen establecido en el ensayo de *Validez del método de investigación de microorganismos específicos*. Incubar a 20 - 25 °C durante 2 a 5 horas. Homogeneizar y transferir 10 ml de la dilución o el equivalente a 1 g ó ml de producto a 90 ml de Caldo de Enriquecimiento de Mossel para *Enterobacteriaceae*. Incubar a 30 - 35 °C durante 24 a 48 horas. Subcultivar sobre Agar Cristal Violeta-Rojo Neutro-Bilis-Glucosa e incubar a 30 - 35 °C durante 18 a 24 horas.

La muestra cumple con el ensayo para bacterias Gram negativas tolerantes a la bilis por gramo o mililitro si no se observa desarrollo de colonias.

Ensayo para *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*

Agregar un volumen de la dilución preparada en *Recuento de microorganismos aerobios totales* equivalente a 1 g ó 1 ml de producto, a Caldo Digerido de Caseína-Soja para obtener 100 ml o el volumen establecido en el ensayo de *Validez del método de recuento*, mezclar e incubar a 30 - 35 °C durante 18 a 24 horas.

Ensayo para Staphylococcus aureus

Subcultivar sobre una placa con Agar Manitol-Salado. Incubar a 30 - 35 °C durante 18 a 72 horas. Si hay desarrollo de colonias típicas amarillas o blancas rodeadas de una zona amarilla, identificarlas para descartar *Staphylococcus aureus*.

La muestra cumple con el ensayo para *Staphylococcus aureus* si no se observa el desarrollo de colonias con las características descriptas o si la identificación es negativa.

Ensayo para Pseudomonas aeruginosa

Subcultivar sobre una placa con Agar Cetrimida. Incubar a 30 - 35 °C durante 18 a 72 horas. Si hay desarrollo de colonias generalmente verdosas identificarlas para descartar *Pseudomonas aeruginosa*.

La muestra cumple con el ensayo para *Pseudomonas aeruginosa* si no se observa el desarrollo de colonias con las características descriptas o si la identificación es negativa.

Ensayo para Escherichia coli

Subcultivar sobre una placa con Agar Mac Conkey. Incubar a 30 - 35 °C durante 18 a 72 horas. Si hay desarrollo de colonias, identificarlas para descartar *Escherichia coli*.

La muestra cumple con el ensayo para *Escherichia coli* si no se observa el desarrollo de colonias con las características descriptas o si la identificación es negativa.

Ensayo para Salmonella

Transferir 0,1 ml de Caldo Digerido de Caseína-Soja a 10 ml de Caldo Rappaport-Vassiliadis para enriquecimiento de *Salmonella* e incubar a 30 - 35 °C durante un 18 a 24 horas. Subcultivar en placas de Agar Xilosa Lisina Desoxicolato. Incubar a 30 - 35 °C durante un período de 18 a 48 horas.

Si se observa la presencia de colonias bien desarrolladas color rojo, con o sin centro negro, identificarlas para descartar *Salmonella*.

La muestra cumple con el ensayo para *Salmonella* si no se observa el desarrollo de colonias con las características descriptas o si la identificación es negativa.

Ensayo para Candida albicans

Agregar un volumen de la dilución preparada en *Recuento de microorganismos aerobios totales*,

equivalente a 1g ó 1 ml de producto, a Caldo Sabouraud Dextrosa para obtener 100 ml, o el volumen establecido en el ensayo de *Validez del método de recuento*. Mezclar e incubar a 30 - 35 °C durante 3 a 5 días. Subcultivar en una placa con Agar Sabouraud Dextrosa e incubar a 30 - 35 °C durante 24 a 48 horas.

Si se observa desarrollo de colonias blancas, identificarlas para descartar *Candida albicans*.

La muestra cumple con el ensayo para *Candida albicans* si no se observa el desarrollo de colonias con las características descriptas o si la identificación es negativa.

Ensayo para anaerobios sulfito-reductores

Agregar un volumen de la dilución preparada en *Recuento de microorganismos aerobios totales*, equivalente a 1 g ó 1 ml de producto, a Medio Tioglicolato previamente calentado durante 10 minutos en un baño de vapor y enfriado, adicionado de azida sódica al 0,03 %, hasta obtener 100 ml. Cubrir la superficie con una mezcla estéril de vaselina y parafina. [NOTA: la mezcla estéril de vaselina y parafina se prepara fundiendo 250 g de parafina conjuntamente con 750 g de vaselina, mezclando bien, repartiendo en tubos y esterilizando en autoclave]. Incubar a 30 - 35 °C durante 48 a 72 horas. Si se observa desarrollo microbiano, transferir 1 ml a un tubo estéril de no más de 16 mm de diámetro exterior y no menos de 200 mm de largo. Agregar por las paredes Agar Sulfito-Polimixina-Sulfadiacina, previamente fundido y enfriado a 40 °C, hasta no más de 1 cm del borde superior del tubo. Cubrir con la mezcla de vaselina-parafina e incubar a 30-35 °C durante 5 a 7 días, observando diariamente.

La muestra cumple con el ensayo de ausencia de microorganismos anaerobios sulfito-reductores por gramo o mililitro si no se observa el desarrollo de colonias negras.

Ensayo para Clostridios

Tomar dos porciones iguales correspondientes a no menos de 1 g o 1 ml de producto a examinar. Calentar una porción a 80 °C durante 10 minutos y enfriar rápidamente. No calentar la otra porción.

Transferir 10 ml de cada una de las porciones mezcladas a dos recipientes de 38 x 200 mm cada uno u otros que contenga 100 ml de Medio Reforzado para Clostridios. Incubar bajo condiciones anaeróbicas a 30 - 35 °C durante 48 horas. Después de la incubación, realizar subcultivos a partir de cada tubo en Agar Columbia e incubar en condiciones anaeróbicas a 30 -35 °C durante 48 horas.

El crecimiento anaeróbico de bacilos (con o sin endoesporas), que dan una reacción de catalasa negativa, indica la presencia de Clostridios.

La muestra cumple con el ensayo para Clostridios si no se observa desarrollo de colonias con las características descritas o si la identificación es negativa.

Ensayo para gérmenes revivificables

Agregar un volumen de una dilución de la muestra, equivalente a 1 g ó ml de producto, a un volumen de Caldo Digerido de Caseína-Soja definido por el ensayo de *Validez del método de investi-*

gación de microorganismos específicos. Incubar a 20 – 25 °C durante al menos 5 días. Agregar otro volumen de la misma dilución, equivalente a 1 g o ml de producto, a un volumen de Medio Fluido Tioglicolato definido por el ensayo de *Validez del método de investigación de microorganismos específicos* (ver *Tabla 6*). Incubar a 30 - 35° C durante al menos 5 días. La muestra cumple con los requisitos del ensayo para ausencia de gérmenes revivificables en un gramo o mililitro si no se observa turbidez debida a desarrollo microbiano.

Tabla 1. Límites de aceptabilidad para productos farmacéuticos no obligatoriamente estériles

Vía de Administración	Recuento de microorganismos aerobios totales (ufc/g ó ml)	Recuento combinado de hongos filamentosos y levaduras (ufc/g ó ml)	Microorganismos específicos (1 g ó ml)
Vía inhalatoria (excepto Soluciones Fisiológicas para nebulizar)	10^2	10^1	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> Ausencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Ausencia de bacterias Gram negativas tolerantes a la bilis
Vías: oromucosal	10^2	10^1	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> Ausencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
cutánea			
gingival			
nasal			
auricular			
parches transdérmicos (límites para un parche incluyendo la capa adhesiva y el soporte)			
Vía vaginal	10^2	10^1	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> Ausencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Ausencia de <i>Candida albicans</i>
Preparaciones acuosas para uso oral	10^2	10^1	Ausencia de <i>Escherichia coli</i>
Preparaciones no acuosas para uso oral	10^3	10^2	Ausencia de <i>Escherichia coli</i>
Vía rectal	10^3	10^2	-
Aplicaciones sobre escaras, ulceraciones o quemaduras	Ausencia de gérmenes revivificables (g ó ml)		

Tabla 2. Antagonistas

Sustancia de Interferencia	Agentes Neutralizantes Potenciales / Método
Glutaraldehído, Mercuriales	Sulfito Acido de Sodio (Bisulfito de Sodio)
Fenólicos, Alcohol, Aldehídos, Sorbato	Dilución
Aldehídos	Glicina
Compuestos de Amonio Cuaternarios (CAC), Parahidroxibenzoatos (Parabenos), Biguanidas	Lecitina
CAC, Yodo, Parabenos	Polisorbato
Mercuriales	Tioglicolato
Mercuriales, Halógenos, Aldehídos	Tiosulfato
EDTA (Edetato)	Iones de Mg o Ca

Tabla 3. Preparación y uso de microorganismos de prueba para recuento

Microorganismo	Preparación de Cepas de Prueba	Promoción del Crecimiento		Aptitud del Método de Recuento en Presencia del Producto	
		Recuento Total de Microorganismos Aerobios	Recuento Total de Hongos Filamentosos y Levaduras	Recuento Total de Microorganismos Aerobios	Recuento Total de Hongos Filamentosos y Levaduras
<i>Staphylococcus aureus</i> Por ejemplo ATCC 6538, NCIMB 9518, CIP 4.83 o NBRC 13276	Agar Digerido de Caseína-Soja o Caldo Digerido de Caseína-Soja 30 - 35 °C 18-24 horas	Agar Digerido de Caseína-Soja y Caldo Digerido de Caseína-Soja ≤ 100 ufc 30 - 35 °C ≤ 3 días		Agar Digerido de Caseína-Soja / NMP Caldo Digerido de Caseína- Soja ≤ 100 ufc 30 - 35 °C ≤ 3 días	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Por ejemplo ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118 o NBRC 13275	Agar Digerido de Caseína-Soja o Caldo Digerido de Caseína-Soja 30 - 35 °C 18 - 24 horas	Agar Digerido de Caseína-Soja y Caldo Digerido de Caseína-Soja ≤ 100 ufc 30 - 35 °C ≤ 3 días		Agar Digerido de Caseína-Soja / NMP Caldo Digerido de Caseína-Soja ≤ 100 ufc 30 - 35 °C ≤ 3 días	
<i>Bacillus Subtilis</i> Por ejemplo ATCC 6633, NCIMB 8054, CIP 52.62 o NBRC 3134	Agar Digerido de Caseína-Soja o Caldo Digerido de Caseína-Soja 30 - 35 °C 18 - 24 horas	Agar Digerido de Caseína-Soja y Caldo Digerido de Caseína-Soja ≤ 100 ufc 30 - 35 °C ≤ 3 días		Agar Digerido de Caseína-Soja / NMP Caldo Digerido de Caseína-Soja ≤ 100 ufc 30 - 35 °C ≤ 3 días	
<i>Candida albicans</i> Por ejemplo ATCC 10231, NCPF 3179, IP 48.72 o NBRC 1594	Agar Sabouraud Dextrosa o Caldo Sabouraud Dextrosa 20 - 25 °C 2 - 3 días	Agar Digerido de Caseína-Soja ≤ 100 ufc 30 - 35 °C ≤ 5 días	Agar Sabouraud Dextrosa ≤ 100 ufc 20 - 25 °C ≤ 5 días	Agar Digerido de Caseína-Soja ≤ 100 ufc 30-35 °C ≤ 5 días NMP: no aplica	Agar Sabouraud Dextrosa ≤ 100 ufc 20 - 25 °C ≤ 5 días
<i>Aspergillus brasiliensis</i> Por ejemplo ATCC 16404, IMI 149007, IP 1431.83 o NBRC 9455	Agar Sabouraud Dextrosa o Agar Papa Dextrosa 20 - 25 °C 5.-7 días o hasta alcanzar una buena esporulación	Agar Digerido de Caseína-Soja ≤ 100 ufc 30 - 35 °C ≤ 5 días	Agar Sabouraud Dextrosa ≤ 100 ufc 20 - 25 °C ≤ 5 días	Agar Digerido de Caseína-Soja ≤ 100 ufc 30 - 35 °C ≤ 5 días NMP: no aplica	Agar Sabouraud Dextrosa ≤ 100 ufc 20 - 25 °C ≤ 5 días

Tabla 4. Valores del Número Más Probable de microorganismos

Combinaciones observadas de Números de tubos que muestran crecimiento en cada juego			NMP por g o por ml de producto	Límites de confianza de 95 %
Número de g o ml de producto por tubo				
0,1	0,01	0,001		
0	0	0	< 3	0-9,4
0	0	1	3	0,1-9,5
0	1	0	3	0,1-10
0	1	1	6,1	1,2-17
0	2	0	6,2	1,2-17
0	3	0	9,4	3,5-35
1	0	0	3,6	0,2-17
1	0	1	7,2	1,2-17
1	0	2	11	4-35
1	1	0	7,4	1,3-20
1	1	1	11	4-35
1	2	0	11	4-35
1	2	1	15	5-38
1	3	0	16	5-38
2	0	0	9,2	1,5-35
2	0	1	14	4-35
2	0	2	20	5-38
2	1	0	15	4-38
2	1	1	20	5-38
2	1	2	27	9-94
2	2	0	21	5-40
2	2	1	28	9-94
2	2	2	35	9-94
2	3	0	29	9-94
2	3	1	36	9-94
3	0	0	23	5-94
3	0	1	38	9-104
3	0	2	64	16-181
3	1	0	43	9-181
3	1	1	75	17-199
3	1	2	120	30-360
3	1	3	160	30-380
3	2	0	93	18-360
3	2	1	150	30-380
3	2	2	210	30-400
3	2	3	290	90-990
3	3	0	240	40-990
3	3	1	460	90-1980
3	3	2	1100	200-4000
3	3	3	> 1100	

Tabla 5. Preparación y uso de microorganismos de prueba para investigación

<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538, NCIMB 9518, CIP 4.83 o NBRC 13276
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118 o NBRC 13275
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739, NCIMB 8545, CIP 53.126 o NBRC 3972
<i>Salmonella enterica</i> subesp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium o, como alternativa,	ATCC 14028
<i>Salmonella enterica</i> subesp. <i>enterica</i> serovar Abony	NBRC 100797, NCTC 6017 o CIP 80.39
<i>Candida Albicans</i>	ATCC 10231, NCPF 3179, IP 48.72 o NBRC 1594
<i>Clostridium sporogenes</i>	ATCC 19404 o ATCC 11437

Tabla 6. Microorganismos de prueba para el ensayo de gérmenes revivificables

Caldo Digerido de Caseína-Soja	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633, CIP 52.62, NCIMB 8054, NBRC 3134 <i>Candida albicans</i> ATCC 10231, IP 48.72, NCPF 3179, NBRC 1594 <i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404, IP 1431.83, IMI 149007, NBRC 9455
Medio Fluido Tioglicolato	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538, CIP 4.83, NCTC 10788, NCIMB 9518, NBRC 13276 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118, NBRC 13275* <i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 19404, CIP 79.3, NCTC 532 o ATCC 11437, NBRC 14293**

* alternativo *Kocuria rhizophila* ATCC 9341

** alternativo *Bacteroides vulgatus* ATCC 8482

225. DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE PERÓXIDOS

El índice de peróxidos I_p de una sustancia es el valor que expresa, en miliequivalentes de oxígeno activo, la cantidad de peróxidos presentes en 1.000 g de muestra.

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, determinar el *Índice de peróxidos* por el *Método I*.

Método I

Procedimiento - Transferir aproximadamente 5,0 g de muestra a un erlenmeyer con tapón esmerilado de 250 ml, agregar 30 ml de una mezcla de ácido acético glacial y cloroformo (3:2), agitar hasta disolver y agregar 0,5 ml de una solución saturada de ioduro de potasio. Agitar exactamente durante 1 minuto, agregar 30 ml de agua y titular con tiosulfato de sodio 0,01 N (SV), agregado lentamente y sin dejar de agitar, hasta que el color amarillo desaparezca. Agregar 5 ml de almidón (SR) y continuar la titulación con tiosulfato de sodio 0,01 N (SV) agitando vigorosamente hasta que el color desaparezca. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver *Titulaciones residuales* en 780. *Volumetría*). El volumen consumido en mililitros de tiosulfato de sodio 0,01 N (SV) multiplicado por 10 y dividido por el peso en gramos de la muestra es el *Índice de peróxidos*.

[NOTA: la titulación del blanco no debe consumir más de 0,1 ml de tiosulfato de sodio 0,01 N (SV)].

Método II

[NOTA: realizar el ensayo protegido de la luz].

Solución de almidón - Agregar 1 g de almidón a una porción de agua fría, mezclar y diluir a 200 ml con agua en ebullición agitando continuamente. Agregar 250 mg de *Ácido Salicílico* y calentar a ebullición durante 3 minutos. Retirar inmediatamente del calor y enfriar.

Procedimiento - Transferir aproximadamente la cantidad de muestra indicada en la *Tabla* a un erlenmeyer con tapón esmerilado, agregar 50 ml

de una mezcla de ácido acético glacial y trimetilpentano (3:2), colocar el tapón y agitar hasta disolver. Agregar 0,5 ml de una solución saturada de ioduro de potasio, colocar el tapón, dejar reposar aproximadamente durante 1 minuto, agitar en forma continua y agregar 30 ml de agua. Titular la solución con tiosulfato de sodio 0,01 N (SV), agregado lentamente y con agitación continua y vigorosa, hasta que el color amarillo del iodo desaparezca casi por completo. Agregar aproximadamente 0,5 ml *Solución de almidón* y continuar la titulación agitando constantemente especialmente en las proximidades del punto final de la titulación para liberar todo el iodo de la capa del solvente. Agregar tiosulfato de sodio 0,01 N (SV) hasta que el color azul desaparezca. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver *Titulaciones residuales* en 780. *Volumetría*). [NOTA 1: la titulación del blanco no debe consumir más de 0,1 ml de tiosulfato de sodio 0,01 N (SV)]. [NOTA 2: cuando el contenido de peróxidos en la sustancia en ensayo es mayor o igual a 70, existe un retraso de 15 a 30 segundos en la neutralización del indicador de almidón por la tendencia del trimetilpentano a separarse del medio acuoso y el tiempo requerido para mezclar adecuadamente el solvente y la solución valorante y liberar las últimas trazas de iodo; se puede agregar una cantidad de 0,5 a 1,0 % de un emulsionante de elevado balance hidrofília-lipofília (BHL), como por ej., polisorbato 60, a la mezcla para retardar la separación de fases y reducir el tiempo que tarda en liberar el iodo. Cuando el contenido de peróxidos en la sustancia en ensayo es mayor a 150 se debe utilizar tiosulfato de sodio 0,1 N (SV)]. Calcular el *Índice de peróxidos* por la fórmula siguiente:

$$1.000VC/P$$

en la cual V es el volumen en ml de tiosulfato de sodio (SV) consumido, C es la normalidad de tiosulfato de sodio empleado y P es el peso en g de la sustancia en ensayo.

Tabla.

Índice de peróxidos esperado	Peso de muestra a examinar (g)
0 - 12	2,00 - 5,00
12 - 20	1,20 - 2,00
20 - 30	0,80 - 1,20
30 - 50	0,500 - 0,800
50 - 90	0,300 - 0,500

335. ENSAYO DE MICOBACTERIAS

Si la muestra en ensayo puede estar contaminada con otros microorganismos diferentes a micobacterias, tratar la muestra con una solución descontaminante apropiada, como solución de hidróxido de sodio -acetilcisteína o solución de laurilsulfato de sodio.

Inocular 0,2 ml de la muestra por triplicado en dos medios sólidos apropiados (Lôwenstein-Jensen y Middlebrook 7H10). Inocular 0,5 ml de la muestra por triplicado en un medio líquido apropiado. Incubar todos los medios a 37 °C durante 56 días.

Determinar la fertilidad de los medios en presencia de la preparación en ensayo inoculando una cepa adecuada de *Mycobacterium sp*, como BCG y, de ser necesario, usar una solución neutralizante.

Si se produce desarrollo de un microorganismo contaminante durante los primeros 8 días de incubación, repetir el ensayo y realizar al mismo tiempo un ensayo de esterilidad de la muestra.

La preparación cumple con los requisitos si al cabo del periodo de incubación no se desarrolla crecimiento de micobacterias.

336. ENSAYO DE MICOPLASMAS

Cuando se indica para un banco maestro de células, un banco de trabajo de células, un lote de semilla de virus o para controles de células, proceder según se indica en *Método de cultivo* y *Método del indicador en cultivos celulares*. Cuando se indica para cosechas virales, graneles de vacuna o lotes finales de producto proceder según se indica en *Método de cultivo*.

MÉTODO DE CULTIVO

Elección del método de cultivo

Realizar el ensayo usando un número suficiente de medios líquidos y sólidos que asegure el crecimiento en las condiciones de incubación elegidas de un pequeño número de micoplasmas que puede estar presente en el material a ser examinado. Los medios líquidos deben contener rojo fenol. Las propiedades nutritivas de cada nuevo lote de medio se deben verificar usando los siguientes organismos:

Acholeplasma laidlawii: para vacunas a las que se les ha agregado antibiótico durante su producción.

Mycoplasma gallisepticum: cuando se ha usado material de origen aviar durante la elaboración.

Mycoplasma orale: para vacunas de uso humano.

Mycoplasma pneumoniae: para vacunas de uso humano.

Mycoplasma synoviae: para vacunas de uso humano.

Condiciones de incubación

Dividir los medios inoculados en dos porciones iguales e incubar una en condiciones aeróbicas y la otra en condiciones de microaerofilia; para medios sólidos mantener una atmósfera de adecuada humedad para prevenir la evaporación de la superficie. Para medios sólidos en condiciones aeróbicas, incubar en una atmósfera de aire que contenga entre 5 y 10 % de dióxido de carbono. Para medios sólidos en condiciones de microaerofilia incubar en una atmósfera de nitrógeno que contenga entre 5 y 10 % de dióxido de carbono.

Propiedades nutritivas

Realizar la determinación de las propiedades nutritivas para cada nuevo lote de medio. Inocular el medio elegido con el organismo de ensayo correspondiente; usar no más de 100 ufc por placa de 60 mm conteniendo 9 ml de medio sólido y no más de 40 ufc por envase de medio líquido conteniendo 100 ml; usar placas separadas para cada organismo ensayado. Incubar los medios en las

condiciones que serán usadas para el ensayo sobre producto. El medio cumple con el ensayo para propiedades nutritivas si se verifica un apropiado crecimiento del organismo y un apropiado cambio de color del medio líquido.

Sustancias inhibitorias

Realizar el ensayo de propiedades nutritivas en presencia del producto en ensayo. Si el crecimiento del organismo elegido es menor que el encontrado en ausencia del producto, éste contiene sustancias inhibitorias que deben ser neutralizadas antes de realizar el ensayo para micoplasmas. La efectividad de la neutralización u otro proceso debe ser comprobada repitiendo el ensayo para sustancias inhibitorias después de la neutralización.

Ensayo para micoplasmas en el producto a ser examinado

Para medios sólidos usar placas de 60 mm de diámetro conteniendo 9 ml de medio. Inocular 0,2 ml del producto a ser examinado en cada una de por lo menos dos placas de medio sólido. Para medios líquidos inocular 10 ml de producto cada 100 ml de medio. Incubar entre 35 y 38 °C en condiciones de aerobiosis y de microaerofilia, durante 21 días; paralelamente incubar una porción de 100 ml de cada medio sin inocular para usar como control. Si durante el agregado del producto en ensayo se produce cualquier cambio de pH, restaurar el valor de pH del medio de cultivo mediante el agregado de una solución de hidróxido de sodio o de ácido clorhídrico.

Al primero, segundo y tercer día después de la inoculación subcultivar cada cultivo líquido por inoculación de 0,2 ml en cada una de dos placas de cada medio sólido utilizado e incubar entre 35 y 38 °C en aerobiosis y microaerofilia durante no menos de 21 días. Repetir este procedimiento al sexto, séptimo y octavo día y nuevamente a los trece o catorce días de iniciado el ensayo. Observar los medios líquidos cada dos o tres días y si se produce cualquier cambio de color subcultivar inmediatamente. Observar los medios sólidos una vez a la semana.

Si los medios líquidos evidencian contaminación fúngica o bacteriana repetir el ensayo. Si, no antes de los 7 días después de la inoculación, no más de una placa de cada paso del ensayo se contamina con hongos o bacterias o se rompe, esa placa debe ser ignorada si se comprueba por examinación inmediata que no presenta evidencia de crecimiento de micoplasmas. Si, en cualquier paso del ensayo más de una placa se

contamina accidentalmente con hongos o bacterias o se rompe, el ensayo no es válido y debe repetirse.

Incluir en el ensayo controles positivos preparados inoculando no más de 100 ufc de especies como *M. orale* o *M. pneumoniae*.

Al finalizar el periodo de incubación, examinar microscópicamente todos los medios sólidos inoculados para la presencia de micoplasmas. El producto cumple el ensayo si no se produce crecimiento de micoplasmas en todos los medios inoculados. Si se produce crecimiento de micoplasma, el ensayo debe ser repetido una vez usando el doble de la cantidad de inóculo, medios y placas, si no se produce crecimiento de micoplasmas el producto cumple el ensayo. El ensayo es no válido si no se produce crecimiento en los controles positivos.

MÉTODO DEL INDICADOR EN CULTIVO CELULAR

Los cultivos celulares se tiñen con un colorante que se une al ADN. Los micoplasmas se detectan por su patrón particulado o filamentoso de fluorescencia sobre la superficie de la célula y, en los casos de contaminación abundante también en las áreas circundantes.

Verificación del sustrato

Usando un cultivo de células Vero como sustrato, preensayar el procedimiento usando un inóculo de no más de 100 ufc de una cepa que crezca en medio sólido o líquido y desafiar su capacidad para detectar contaminación por micoplasmas tales como *Mycoplasma hyorhinae* y *Mycoplasma orale*. Puede utilizarse un sustrato celular diferente, por ejemplo la línea celular de producción, si se ha demostrado que provee la misma sensibilidad para la detección de potencial contaminación por micoplasmas.

Método

Emplear no más de 1 ml del producto en ensayo para inocular por duplicado un área no menor a 25 cm² del cultivo celular indicador creciendo confluyente. Incluir en el ensayo un control negativo (no infectado) y dos controles positivos de micoplasmas tales como *Mycoplasma hyorhinae* y *Mycoplasma orale*. Usar un inóculo de no más de 100 ufc para los controles positivos.

Si para suspensiones virales la interpretación de los resultados se ve afectada por el efecto

citopático, el virus puede ser neutralizado usando un antisuero específico que no tenga efecto inhibitorio sobre micoplasmas o el sustrato celular y que no permita el crecimiento de los virus. Para demostrar la ausencia de efectos inhibitorios en el suero, llevar a cabo controles positivos en presencia y en ausencia del antisuero.

Procedimiento

Sembrar el cultivo celular a una densidad regular (2×10^4 a 2×10^5 cel/ml o 4×10^3 a $2,5 \times 10^4$ cel/cm²) e incubar a 36 ± 1 °C durante por lo menos 2 días. Inocular el producto en ensayo e incubar durante por lo menos 2 días; realizar no menos de un subcultivo. Permitir el crecimiento del último subcultivo en una superficie apropiada para el procedimiento del ensayo. No permitir que el último subcultivo alcance a ser confluyente ya que esto podría inhibir la tinción e impedir la visualización de los micoplasmas. Descartar el medio. Enjuagar la monocapa con Solución reguladora fosfato salina pH 7,4 luego con una mezcla de iguales volúmenes del mismo solvente y una solución fijadora apropiada y por último con la solución fijadora. Agregar la solución fijadora y dejar reposar durante 10 minutos. Eliminar y descartar la solución fijadora. Si la monocapa va a ser teñida posteriormente, secar completamente y si la monocapa va a ser teñida directamente, eliminar la solución fijadora con dos lavados con agua destilada estéril y descartar el agua. Agregar bisbenzimidida diluida (SR) o cualquier otro colorante para ADN y dejar reposar durante 10 minutos. Eliminar el colorante y lavar la monocapa con agua.

Examinar por epifluorescencia (filtro de excitación a 300 nm/380 nm, filtro barrera LP 440 nm) con un aumento entre 100 y 400 × o mayor. Comparar la apariencia microscópica del cultivo de ensayo con los controles positivos y negativos, examinando la fluorescencia extranuclear. Los micoplasmas se visualizan como puntos o filamentos sobre el citoplasma celular y, en algunos casos en los espacios intercelulares.

El producto a ser examinado cumple con el ensayo si no se exhibe evidencia de la presencia de micoplasmas en los cultivos de ensayo inoculados con el producto. El ensayo sólo es válido si los controles positivos exhiben evidencia de la presencia de micoplasma.

339. ENSAYO DE NEUROVIRULENCIA PARA VACUNAS A VIRUS VIVO

Para cada ensayo, utilizar no menos de diez monos que sean seronegativos para el virus en ensayo. Para cada mono inyectar no más de 0,5 ml de la muestra en ensayo dentro de la región del tálamo de cada hemisferio salvo otro caso indicado. La cantidad total de virus inoculado en cada mono no debe ser menor de la cantidad contenida en la dosis humana simple recomendada de la vacuna. Para verificar la ausencia de virus neurovirulento salvaje, mantener un grupo de no menos de cuatro monos control. Observar los monos inoculados durante 17 a 21 días para síntomas de parálisis y otra evidencia de complicación neurológica, observar los monos control durante 10 días más del mismo período. Los animales que mueran durante las 48 horas después de la inyección son considerados muertos por causas no específicas y pueden ser reemplazados. El ensayo sólo es válido si no más de 20 % de los monos inoculados mueren por causas no específicas y muestras de suero de los monos control tomadas al momento de inoculación de los animales del ensayo y 10 días posteriores a la muerte no muestran signos de infección con virus salvajes del tipo de virus a en ensayo o por virus de sarampión. Al final del período de observación realizar una autopsia y un examen histopatológico de las áreas apropiadas del cerebro para evidencia de complicaciones del sistema nervioso central. La muestra en ensayo cumple con los requisitos si no hay evidencia clínica e histopatológica inesperadas de complicaciones del sistema nervioso central atribuibles al virus inoculado.

ENSAYO PARA LA VACUNA CONTRA LA POLIOMIELITIS ORAL

Los monos utilizados en el ensayo de neurovirulencia deben cumplir con los requisitos de *Vacuna contra la poliomiélitis oral* y deben pesar no menos de 1,5 kg. La patogenicidad para monos *Macaca* o *Cercopithecus* es evaluada en comparación con la de la preparación del virus de referencia para neurovirulencia mediante inoculación en la región lumbar del sistema nervioso central luego de la sedación con una sustancia apropiada, por ejemplo hidrocloreuro de ketamina. Una muestra de suero tomada antes de la inyección debe demostrar no contener anticuerpos neutralizantes a una dilución de 1 en 5 cuando se evalúa contra no más de 1.000 CCID₅₀ de cada uno de los tres tipos de poliovirus.

Número de monos

Inocular igual número de animales con la vacuna en ensayo y la preparación de referencia. Distribuir los animales al azar entre los distintos grupos de tratamiento y codificar las cajas y su identidad para que el tratamiento recibido por cada animal sea conciliado por los evaluadores de cada sección. El número de monos inoculados debe ser tal que en la evaluación de la vacuna y de la preparación de referencia, se incluyan no menos de once monos positivos para el virus tipo 1 y tipo 2 y no menos de dieciocho monos positivos para el virus tipo 3 (monos positivos son aquellos que muestran lesiones neuronales específicas del poliovirus en el sistema nervioso central).

Puede ensayarse más de un lote de vacuna con la misma referencia homotípica. Siempre que sea posible deben utilizarse monos del mismo grupo de cuarentena. Si se utilizan monos provenientes de 2 grupos se deben tratar igual número de cada grupo con la vacuna y con la preparación de referencia. Si el ensayo se realiza en 2 días de trabajo, un mismo número de monos de cada grupo debe ser inoculado en cada día con la vacuna y la preparación de referencia homotípica.

Contenido de virus

Ajustar el contenido de virus de la vacuna y el de la preparación homotípica de referencia de manera de estar entre $10^{5.5}$ y $10^{6.5}$ CCID₅₀ por 0,1 ml.

Observaciones

Observar todos los monos durante 17 a 22 días para determinar la presencia de signos de poliomiélitis u otras infecciones virales. Realizar una autopsia a aquellos monos que sobreviven las primeras 24 horas pero mueren antes del día 11 después de la inoculación para determinar si la poliomiélitis fue la causa de muerte. Los animales que mueren por causas diferentes a la poliomiélitis son excluidos para la evaluación. Sacrificar los animales moribundos o aquellos que están severamente paralizados y realizar una autopsia. El ensayo sólo es válido si no más de 20 % de los animales muestra infección recurrente durante el período de observación.

Número de secciones examinadas

Se sugiere la examinación histológica de por lo menos: médula lumbar, médula cervical, bulbo raquídeo inferior y superior, cerebro medio, tálamo y la corteza motora de cada mono.

Cortar las secciones de un espesor de 15 µm y teñidas con galocianina. El mínimo número de secciones examinadas es el siguiente:

1. 12 secciones representativas del engrosamiento lumbar en su totalidad,
2. 10 secciones representativas del engrosamiento cervical en su totalidad,
3. 2 secciones del bulbo raquídeo,
4. 1 sección del puente y cerebelo,
5. 1 sección del cerebro medio,
6. 1 sección del lado izquierdo y otra del lado derecho del tálamo,
7. 1 sección del lado izquierdo y otra del lado derecho de la corteza cerebral.

Puntaje de la actividad viral

Para la evaluación de la actividad del virus en las hemisecciones de la médula espinal y del tallo cerebral se utiliza un sistema de puntaje según la severidad de las lesiones, diferenciándose infiltración celular y destrucción de neuronas según se indica:

1. Solo infiltración celular (el mono no se cuenta como positivo)
2. Infiltración celular con daño neuronal mínimo
3. Infiltración celular con daño neuronal extensivo
4. Daño neuronal masivo con o sin infiltración celular

Los puntajes son registrados en una planilla. Un mono con lesiones neuronales en las secciones pero que no presente tracto de aguja es considerado como positivo. Un mono que presente tracto de aguja en las secciones pero no lesiones específicas del virus no es considerado positivo. Si en una sección se observa daño debido a trauma pero ninguna lesión específica por virus, dicha sección no será incluida en la valoración. La gravedad de las lesiones se basa en la observación de los cortes histológicos lumbar (L), cervical (C) y cerebral (B). El índice de lesión (IL) para cada mono positivo se calcula mediante la fórmula siguiente:

$$IL = \frac{\left[\frac{\sum L}{N_{hemisecc}^o} \right] + \left[\frac{\sum C}{N_{hemisecc}^o} \right] + \left[\frac{\sum B}{N_{hemisecc}^o} \right]}{3}$$

Calcular el índice de lesión promedio para cada grupo de monos positivos.

Evaluación

La comparación de la actividad del virus en la vacuna y en la preparación de referencia se basa en la actividad existente en el engrosamiento lumbar de la médula y el grado de difusión de la actividad desde esta región hacia el engrosamiento cervical y el cerebro. La vacuna será aceptada o rechazada sobre la base de la valoración total de todos los animales

ensayados. Los animales que presenten individualmente una actividad inusualmente elevada, tanto en la región lumbar o como resultado de la difusión desde dicha región, también son tenidos en cuenta en la evaluación final. El producto a granel filtrado cumple el ensayo si el número de animales requerido es positivo y si en ninguno de los exámenes clínicos e histopatológicos se registra una diferencia significativa entre la patogenicidad del virus de la vacuna y el del material de referencia.

Criterio de aceptación

Realizar un mínimo de cuatro ensayos de neurovirulencia (considerados calificadorios) sobre cada vacuna de referencia (tipos 1, 2 y 3), para obtener datos sobre la actividad de tales vacunas para establecer criterios de aceptabilidad para las vacunas sometidas a ensayo. Calcular el valor medio general de las lesiones M para los ensayos repetidos con cada virus de referencia, junto con una estimación conjunta de la varianza intra-ensayo s^2 y la desviación intra-ensayo s .

Los criterios de validez para los resultados de un ensayo sobre una preparación de referencia se establecen sobre la base de los datos acumulados de los ensayos calificadorios por lo que no es posible dar ningún criterio aplicable de forma general. En laboratorios con experiencia limitada, puede resultar de ayuda el siguiente método empírico para establecer límites aceptables para la media de los índices de lesión para la preparación de referencia X_{ref} :

	Límite inferior	Límite superior
Tipo 1 y 2	$M - s$	$M + s$
Tipo 3	$M - s/2$	$M + s$

Si el valor medio de lesiones para la vacuna en ensayo es X_{test} y C_1 , C_2 y C_3 son constantes determinadas según se indica:

$$C_1 = 2,3 \sqrt{\frac{2s^2}{N_1}}$$

$$C_2 = 2,6 \sqrt{\frac{2s^2}{N_1}}$$

$$C_3 = 1,6 \sqrt{\frac{2s^2}{N_2}}$$

Siendo N_1 el número de monos positivos por vacuna analizada, N_2 el número de monos positivos en los dos ensayos, 2,3 la desviación normal en el nivel de 1,0 %, 2,6 la desviación normal en el nivel de 0,5 % y 1,6 la desviación normal en el nivel de 5,0 %.

La vacuna no cumple con los requisitos si:

$$X_{test} - X_{ref} > C_1$$

La vacuna puede ser reanalizada una vez si:

$$C_1 < X_{test} - X_{ref} < C_2$$

Si la vacuna es reanalizada, calcular las medias de los puntajes de las lesiones de las vacunas en ensayo y la vacuna de referencia. La vacuna no cumple con los requisitos si:

$$\frac{X_{(test_1 + test_2)} - X_{(ref_1 + ref_2)}}{2} > C_3$$

Un ensayo de neurovirulencia en el cual el puntaje de la lesión media para la referencia X_{ref} no es compatible con la experiencia previa, no debe ser usado para evaluación de una vacuna en ensayo.

El ensayo sólo es válido si el puntaje de la lesión media para la vacuna en ensayo X_{test} es calculada y comparada con una vacuna de referencia homotípica.

345. ENSAYO DE *SALMONELLA*/FRACCIÓN MICROSOMAL (TEST DE AMES) PARA DETECCIÓN DE MUTAGENICIDAD

El ensayo de Salmonella-fracción microsomal (o test de Ames) es una prueba *in vitro* que permite evaluar el potencial efecto mutagénico de compuestos químicos o productos biológicos como una medida indirecta del posible efecto carcinogénico sobre seres humanos. Esta prueba utiliza varias cepas de *Salmonella typhimurium* auxótrofas para el aminoácido histidina, que poseen distintas mutaciones en genes del operón histidina. Esas mutaciones son el blanco para mutágenos que producen daño al ADN por diferentes mecanismos. Cuando esas cepas de *Salmonella* se siembran sobre placas de medio mínimo-glucosa (placas MG) que contienen trazas de histidina, sólo pueden crecer en él las bacterias que revirtieron al fenotipo *his+*. El número de colonias revertantes por placa producidas en forma espontánea es relativamente constante para cada cepa. Por eso cuando se agrega un mutágeno a la placa, el número de colonias revertantes aumenta de manera dependiente de la dosis de dicho mutágeno.

Como las bacterias son incapaces de metabolizar productos químicos mediante citocromos P450, como los mamíferos y otros

vertebrados, un componente clave del ensayo para hacerlo realmente útil es el agregado de un *Sistema exógeno de activación metabólica de mamífero*; se emplea habitualmente fracción microsomal de hígado de rata.

Cepas

Se utilizan las cepas de *Salmonella typhimurium* TA 97a, TA 98, TA 100, TA 102, TA 1535 y TA 1538. Las mismas deberán ser provistas por un centro de referencia que certifique su autenticidad.

Éstas se conservarán congeladas a -80 °C (en freezer) o en nitrógeno líquido. Su mantenimiento se realizará de acuerdo a lo aconsejado por el proveedor o lo acostumbrado por el laboratorio. Los cultivos congelados se prepararán a partir de cultivos frescos a los que se les agregará un agente crioprotector (por ejemplo Glicerol al 10 % v/v concentración final).

Cada cepa tiene una mutación en el operón histidina y otras mutaciones que aumentan su capacidad para detectar mutágenos. Los genotipos relevantes de las cepas se detallan en la *Tabla 1*.

Tabla 1

Cepa	Mutación operón histidina	Reversión	<i>bio ΔuvrB</i>	LPS	Plásmido
TA 97a	<i>hisD6610</i>	Corrimiento de armazón	Deleción	<i>rfa</i>	pKM101
TA 98	<i>hisD3052</i>	Corrimiento de armazón	Deleción	<i>rfa</i>	pKM101
TA 100	<i>his G46</i>	Sustitución	Deleción	<i>rfa</i>	pKM101
TA 102	<i>hisG428</i>	Transición /transversión	Tipo salvaje	<i>rfa</i>	pKM101, pAQ1
TA 1535	<i>his G46</i>	Sustitución	Deleción	<i>rfa</i>	-
TA 1538	<i>hisD3052</i>	Corrimiento de armazón	Deleción	<i>rfa</i>	-

bioΔuvrB: la mutación por deleción de *uvrB* elimina el sistema de reparación de ADN por escisión. Eso aumenta la mutabilidad de la bacteria y la hace sensible a la irradiación con luz UV. La deleción abarca también el gen para biotina lo que hace que la bacteria sea dependiente de biotina.

rfa: esta mutación produce una síntesis defectuosa del lipopolisacárido (LPS) de pared lo que aumenta la permeabilidad de la bacteria para compuestos voluminosos. La bacteria se vuelve sensible al colorante Cristal Violeta.

Plásmido pKM101: aumenta la mutagénesis química e inducida por UV mediante un aumento de la ruta de reparación por recombinación, propensa a error. El plásmido confiere resistencia a ampicilina.

Plásmido pAQ1: este plásmido multicopia lleva la mutación *hisG428*. Eso amplifica el número de sitios para la acción del mutágeno con el consiguiente aumento de reversión de la cepa portadora. El plásmido confiere resistencia a tetraciclina.

SOLUCIONES Y MEDIOS DE CULTIVO

Soluciones

Cada ensayo debe realizarse con una misma partida de reactivos, soluciones, medios y ágar.

I. Solución de glucosa al 10 %

D-glucosa (Dextrosa).....100 g
Agua destilada c.s.p.....1 litro

Agregar la *D*-glucosa a 700 ml de agua. Mezclar hasta que la solución sea límpida. Completar a volumen con agua destilada. Fraccionar en volúmenes superiores a 20 ml. Autoclavar. Conservar en heladera.

II. Solución de biotina al 0,01 %

D-biotina.....10 mg
Agua destilada.....100 ml

Calentar el agua a aproximadamente 40 °C y disolver la *D*-biotina. Esterilizar por filtración a través de membrana con tamaño nominal de poro no mayor de 0,45µm . Conservar en heladera.

III. Solución de histidina al 0,5 %

L-histidina . HCl . H₂O.....500 mg
Agua destilada.....100 ml

Disolver la histidina en el agua destilada. Autoclavar y conservar en heladera.

IV. Solución de histidina/biotina 0,5 mM

D-biotina.....124 mg
L-histidina . HCl . H₂O.....96 mg
Agua destilada.....1 litro

Calentar el agua a aproximadamente a 40 °C y disolver la *D*-biotina y la *L*-histidina. Esterilizar por filtración a través de de membrana con tamaño nominal de poro no mayor de 0,45 µm. Conservar en heladera.

V. Solución reguladora de fosfato de sodio 0,2 M pH 7,4

Solución A:

Fosfato dibásico de sodio anhidro.....28,4 g
Agua destilada c.s.p.....1 litro

Solución B:

Fosfato monobásico de sodio monohidrato....27,6 g
Agua destilada c.s.p.....1 litro

Disolver las sales en un volumen reducido de agua y luego completar a volumen final.

Para preparar la solución reguladora mezclar 1 volumen de *Solución A* y 2 volúmenes de *Solución B*. Ajustar el pH a 7,4 ± 0,2. Esterilizar en autoclave. Conservar en heladera.

VI. Cofactores para la mezcla S9

D-glucosa-6-fosfato.....1,6 g
Nicotinamida adenina dinucleótido
fosfato (NADP).....3,5 g
Cloruro de magnesio.....1,8 g
Cloruro de potasio.....2,7 g
Fosfato dibásico de sodio anhidro.....12,8 g
Fosfato monobásico de sodio
monohidrato.....2,8 g
Agua destilada c.s.p.....1 litro

Agregar a 750 ml de agua los ingredientes uno a uno, disolviendolos por completo antes de agregar el siguiente. Completar a volumen con agua. Esterilizar por filtración a través de membrana con tamaño nominal de poro no mayor de 0,45µm.. Conservar a -20 °C en envases de vidrio inactínico.

VII. Solución de ampicilina al 0,8 %

Ampicilina.....800 mg
Agua destilada.....100 ml

Disolver la ampicilina en el agua caliente (aproximadamente 40 °C). Esterilizar por filtración a través de membrana con tamaño nominal de poro no mayor de 0,45µm. Conservar en heladera en envases de vidrio inactínico durante no más de 15 días.

VIII. Solución de tetraciclina al 0,08 %

Tetraciclina.....80 mg
Agua destilada:Etanol (1:1).....100 ml

Disolver la tetraciclina en la mezcla de agua destilada : etanol (1:1). Esterilizar por filtración a través de membrana con tamaño nominal de poro no mayor de 0,45µm. Conservar en envase inactínico en heladera.

IX. Solución de cristal violeta al 0,1 %

Cristal violeta.....100 mg
Agua destilada.....100 ml

Disolver el cristal violeta en el agua. Conservar en envase inactínico en heladera.

X. Soluciones madres de mutágenos control

Solución de 2-aminoantraceno: 25 mg por ml en dimetil sulfóxido.

Solución de Azida sódica: 10,0 mg por ml en agua destilada.

Solución de 9-aminoacridina: 10 mg por ml en dimetil sulfóxido.

Solución de Nitrofurantoína: 20 mg por ml en dimetil sulfóxido.

Solución de Mitomicina C: 1 mg por ml en agua destilada.

Solución de 4-Nitroquinolina-N-óxido: 20 mg

por ml en dimetil sulfóxido.

Se pueden emplear otros mutágenos de probada acción sobre la cepa de interés.

Las soluciones madres de los mutágenos deben ser preparadas extremando las medidas de seguridad dado la peligrosidad de las sustancias que se manipulan. Se debe trabajar solamente bajo campana de seguridad biológica y con la protección adecuada.

En cada caso pesar la cantidad de droga necesaria por diferencia en el recipiente en el cual se preparará la solución, preferentemente frascos de vidrio inactivado, estériles, agregar el volumen de solvente estéril necesario y disolver. No filtrar.

Las soluciones madres de los mutágenos se conservan a -20°C y se diluyen a las concentraciones de trabajo en el día del ensayo.

PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO Y PLACAS

I. Medio E (50x) (sales VB ó Vogel-Bonner)

Sulfato de magnesio heptahidrato.....	10 g
Ácido cítrico monohidrato	100 g
Fosfato dibásico de potasio anhidro	500 g
Fosfato de sodio y amonio tetrahidrato.....	175 g
Agua destilada c.s.p.....	1 litro

Agregar los ingredientes a 650 ml de agua caliente (aproximadamente a 40°C) en el orden indicado y mezclar con agitador magnético hasta disolución total antes del agregado del componente siguiente. Completar a volumen con agua. Fraccionar, esterilizar a 121°C en autoclave durante 15 minutos. Conservar en envases inactivados a temperatura ambiente.

II. Agar blando suplementado con histidina/biotina

Agar.....	6 g
Cloruro de sodio.....	6 g
Solución de histidina/biotina 0,5 mM.....	100 ml
Agua destilada c.s.p.....	1 litro

Autoclavar el agua con el agar y el cloruro de sodio a 121°C durante 15 minutos. Conservar en heladera. En el momento de usar fundir el medio preparado en microondas o en agua hirviendo y agregar la *Solución estéril de histidina/biotina 0,5 mM*.

III. Caldo nutritivo

Seguir las instrucciones del fabricante que figuran en el envase.

IV. Placas de agar nutritivo

Seguir las instrucciones del fabricante que figuran en el envase. Luego de la esterilización

dejar entibiar y volcar en placas de Petri de plástico estériles.

V. Placas de medio mínimo-glucosa (MG)

Agar.....	15 g
Medio E (50x).....	20 ml
Solución de glucosa al 10 %.....	50 ml
Agua destilada c.s.p.....	1 litro

Agregar el agar al agua y autoclavar. Dejar enfriar hasta aproximadamente 60°C . Agregar el *Medio E (50x)* y la *Solución de glucosa al 10 %*, previamente esterilizados, mezclar cuidadosamente y volcar en placas de Petri de plástico estériles.

VI. Placas de medio mínimo-glucosa (MG) enriquecidas

[NOTA: estas placas serán empleadas para el aislamiento y la caracterización fenotípica de las cepas de manera que en todos los casos deben contener histidina en exceso (para su preparación se emplea *Solución de histidina al 0,5 %*), a diferencia de las placas que se emplean para la realización del ensayo que sólo contendrán trazas de histidina para permitir sólo unas pocas divisiones de las cepas *his* -].

Para preparar medio mínimo – glucosa enriquecido agregar los siguientes volúmenes a 1 litro del medio agarizado preparado en *V. Placas de medio mínimo-glucosa (MG)*:

Placas MG-biotina

Solución de biotina al 0,01 %.....	8 ml
------------------------------------	------

Placas MG-histidina

Solución de histidina al 0,5 %.....	8 ml
-------------------------------------	------

Placas MG-biotina/histidina

Solución de biotina al 0,01 %.....	8 ml
------------------------------------	------

Solución de histidina 0,5 %.....	8 ml
----------------------------------	------

Placas MG-biotina/histidina/Ampicilina

Solución de biotina al 0,01 %.....	8 ml
------------------------------------	------

Solución de histidina al 0,5 %.....	8 ml
-------------------------------------	------

Solución de ampicilina al 0,8 %.....	3 ml
--------------------------------------	------

(concentración final $24\ \mu\text{g}$ por ml)

PlacasMG-biotina/histidina/Ampicilina/Te-traciclina

Solución de biotina al 0,01 %.....	8 ml
------------------------------------	------

Solución de histidina al 0,5 %.....	8 ml
-------------------------------------	------

Solución de ampicilina al 0,8 %.....	3 ml
--------------------------------------	------

(concentración final $24\ \mu\text{g}$ por ml)

Solución de tetraciclina al 0,08 %.....	0,25 ml
---	---------

(concentración final $2\ \mu\text{g}$ por ml)

Sistema exógeno de activación metabólica

El sistema de activación metabólica utilizado habitualmente consiste en el sobrenadante de la fracción obtenida a 9.000 G con un homogenato de

hígado de rata (fracción microsomal S-9) que ha sido previamente inducida con una mezcla de bifenilos policlorados de las que se encuentran comercialmente disponibles, o con una mezcla de fenobarbital y β -naftoflavona. Una vez obtenida la fracción microsomal S-9, se fracciona y se conserva a -80 °C.

Mezcla S-9

En el momento de emplearlos se descongela un volumen de S-9 de acuerdo a las necesidades del ensayo y el volumen equivalente de mezcla de cofactores (ver *Soluciones y medios de cultivo*). Se prepara la mezcla S9: habitualmente se emplean concentraciones entre 5 y 30 % v/v de fracción microsomal en solución de cofactores. La elección dependerá del tipo de producto a ensayar.

Recuperación de las cepas para su caracterización fenotípica y para la realización del ensayo

Para cada ensayo las cepas de *Salmonella* se recuperan tomando una alícuota del cultivo congelado y transfiriéndola a caldos nutritivos (con el agregado de antibiótico en los casos que corresponda para evitar la pérdida de los plásmidos) de manera de obtener una densidad inicial aproximada de células de entre 10^6 y 10^7 ufc por ml. Los caldos se incuban a 35 – 37 °C hasta una densidad de $1-2 \times 10^9$ ufc por ml. Se sugiere realizar un recuento en placa, mediante diluciones seriadas, para confirmar el número de bacterias viables. De ahora en adelante estos caldos serán denominados *Cultivos de trabajo*.

[NOTA: el resto del cultivo congelado no se reutiliza.]

Caracterización fenotípica de las cepas de *Salmonella typhimurium* utilizadas para la realización del ensayo

A continuación se describen los ensayos a realizar con las cepas de *Salmonella typhimurium* que se utilizarán para la realización del ensayo con el propósito de confirmar la identidad genética de las mismas y su tasa de reversión espontánea al carácter *his*⁺.

Estos ensayos deben ser realizados cuando se reciban cepas nuevas, cuando se preparen cultivos para ser congelados o cuando se considere necesario.

Procedimiento

Los ensayos se realizan con cultivos de toda la noche en caldo nutritivo.

a) Dependencia de histidina (his)

Se realiza un aislamiento del cultivo en una Placa MG-biotina. Como todas las cepas utilizadas

de *Salmonella* son dependientes de histidina, no debe observarse crecimiento luego de 48 horas de incubación a 35 – 37,0 °C.

b) Dependencia de biotina (bio)

Se realiza un aislamiento del cultivo en una Placa MG-histidina. No debe observarse crecimiento, excepto con la cepa TA102 que es independiente de biotina, luego de 48 hs de incubación a 35 - 37 °C.

c) Dependencia de biotina e histidina (bio, his)

Se realiza un aislamiento del cultivo en una Placa MG-biotina/histidina. Debe observarse crecimiento con todas las cepas luego de 24-48 hs de incubación a 35 - 37 °C..

d) Marcador rfa

Se realiza un aislamiento del cultivo en una Placa MG-biotina/histidina, o en una placa de agar nutritivo. Se coloca un disco de papel de filtro estéril en el centro de la siembra y se aplican sobre él, 10 μ l de solución de cristal violeta al 0,1 %. Todas las cepas deben mostrar una zona de inhibición de crecimiento alrededor del disco después de 24 horas de incubación a 35 - 37 °C.

*e) Deleción *uvrB**

Se realiza un aislamiento del cultivo en una Placa MG-biotina/histidina o en una placa de agar nutritivo. Se irradia la placa con luz UV(C) durante un período de tiempo previamente estandarizado, se envuelve en papel de aluminio para evitar la fotorreparación en contacto con la luz y se incuba a 35 - 37 °C. Excepto la cepa TA102 el resto de las cepas de *Salmonella* no crecen después de la irradiación.

f) Presencia del plásmido pKM101 (resistencia a ampicilina)

Se realiza un aislamiento del cultivo en una Placa MG-biotina/histidina/Ampicilina o en una placa de agar nutritivo con ampicilina (24 μ g por ml). Se incuba a 35 - 37 °C y debe observarse crecimiento sólo con las cepas portadoras del plásmido pKM101.

g) Presencia del plásmido pAQ1 (resistencia a tetraciclina)

Se hace un aislamiento del cultivo en una Placa MG-biotina/histidina/Ampicilina/Tetraciclina o en una placa de agar nutritivo con tetraciclina (2 μ g por ml). Se incuba a 35 - 37 °C y debe observarse crecimiento sólo con la cepa TA102 que es la única portadora del plásmido pAQ1.

h) Frecuencia de mutación espontánea

Para determinar la frecuencia de mutación espontánea de las cepas de *Salmonella* se emplea el

método de incorporación en placa (ver más adelante). Los valores de reversión espontánea deben encontrarse dentro del rango de valores histórico del laboratorio para cada cepa o del informado por el proveedor.

ENSAYO DE SALMONELLA/FRACCIÓN MICROSOMAL (TEST DE AMES) PARA DETECCIÓN DE MUTAGENICIDAD

En esta sección se describirá la realización del Ensayo de *Salmonella*/Fracción microsomal (Test de Ames) para la detección de mutagenicidad de compuestos químicos y productos biológicos.

PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Solventes

Se utilizará preferentemente agua destilada estéril. Si la muestra a probar no es soluble en agua se utilizará dimetil sulfóxido.

Si se emplea otro solvente se realizará un ensayo preliminar de toxicidad del mismo para determinar la concentración máxima que no afecte el crecimiento y supervivencia bacterianos.

Determinación preliminar de la toxicidad de la muestra en estudio

Para esta etapa se empleará el procedimiento de incorporación en placa del Test de Ames que se describe más adelante.

Se realizará un ensayo preliminar de toxicidad para determinar la dosis máxima de la muestra que puede emplearse en el ensayo de mutagenicidad.

Esta prueba se realizará en ausencia y presencia de la mezcla de activación metabólica y deberán incluirse un control positivo y uno de solvente. Se probarán al menos tres concentraciones de la solución (acuosa u orgánica) de la muestra.

El ensayo de toxicidad puede llevarse a cabo con una sola cepa (TA100 o TA98, o las cepas que se emplearán en el ensayo definitivo).

La cepa se pondrá en presencia de su mutágeno específico (por ej. 2-nitro fluoreno para TA98) y se observará la disminución en el recuento de revertantes como resultado de la inhibición de crecimiento por la muestra.

Se empleará la menor dilución de la muestra que no inhiba el crecimiento bacteriano para la realización del ensayo definitivo.

En el caso de productos no tóxicos se propone una dosis máxima entre 5 y 10 mg por placa siempre que la solubilidad de los mismos lo permita.

PROCEDIMIENTOS

Ensayo de incorporación en placa

En este ensayo se exponen directamente las cepas de *Salmonella* a la acción de la muestra a

probar sobre *Placas de medio mínimo-glucosa (MG)* en presencia y ausencia de *Mezcla S-9*.

Procedimiento experimental

1) Preparar los cultivos de trabajo según lo descrito anteriormente.

2) Rotular las *Placas de medio mínimo-glucosa (MG)* y los tubos de vidrio estériles de 13 × 100 mm.

3) Preparar la *Mezcla S-9* y mantenerla sobre hielo hasta el momento de su uso.

4) Preparar las diluciones de la muestra a ser probadas. Se propone un mínimo de cinco diluciones de la muestra en estudio, que cubran un rango de tres órdenes de magnitud.

5) Preparar el *Agar blando suplementado con histidina/biotina* y mantenerlo a 43 - 45 °C.

6) Agregar a los tubos de vidrio estériles mantenidos a 43 - 45 °C, en el orden siguiente y mezclando después de cada agregado:

- Entre 2 y 3 ml de *Agar blando suplementado con histidina/biotina*.
- 0,50 ml de la *Mezcla S9* o de *Solución reguladora de fosfato de sodio 0,2 M pH 7,4* según corresponda
- 0,05 ml de la muestra en ensayo
- 0,1 ml del cultivo de trabajo de la cepa de *Salmonella* (entre 1 y 2 × 10⁸ ufc por tubo).

7) Volcar el contenido de cada tubo en una placa de agar *MG* y dejar solidificar el agar blando a temperatura ambiente.

8) Invertir las placas y colocarlas en la estufa de cultivo a 35 - 37 °C durante 48 horas.

9) Contar las colonias revertantes aparecidas en cada placa.

Sembrar cada condición por triplicado.

Ensayo de preincubación

En esta variante del método se preincuba la solución de la muestra con la cepa (aproximadamente 10⁸ ufc por tubo) en presencia y ausencia del sistema de activación metabólica durante 20 a 30 minutos a 35 - 37 °C antes de mezclar con el *Agar blando suplementado con histidina/biotina* y volcarlo sobre la superficie de la placa de medio mínimo con glucosa.

Los tubos deben ser preincubados con agitación.

Procedimiento experimental

1) Preparar los cultivos de trabajo según lo descrito anteriormente.

2) Rotular las placas *MG* y los tubos de vidrio estériles de 13 × 100 mm.

3) Preparar la *Mezcla S9* y mantenerla sobre hielo hasta el momento de usar.

4) Preparar las diluciones de la muestra a ser probada. Se propone un mínimo de cinco

diluciones de la muestra en estudio, que cubran un rango de tres órdenes de magnitud.

5) Agregar a los tubos de vidrio estériles mantenidos a 43 - 45 °C, en el orden siguiente y mezclando después de cada agregado:

- 0,50 ml de la *Mezcla S9* o de *Solución reguladora de fosfato de sodio 0,2 M pH 7,4* según corresponda.
- 0,05 ml de la muestra a probar
- 0,1 ml del cultivo de trabajo de la cepa de *Salmonella* (entre 1 y 2×10^8 ufc por tubo)

6) Incubar los tubos en baño con agitación a 35 - 37 °C durante 20-30 minutos. Concluida la incubación agregar a cada tubo entre 2 y 3 ml de *Agar blando suplementado con histidina/biotina* previamente fundido y mantenido a 43 - 45 °C.

7) Volcar el contenido de cada tubo en una placa

de agar *MG* y dejar solidificar el agar blando a temperatura ambiente.

8) Invertir las placas y colocarlas en la estufa de cultivo a 35 - 37 °C durante 48 horas.

9) Contar las colonias revertantes aparecidas en cada placa.

Sembrar cada condición por triplicado.

Controles positivos y negativos

En todas las pruebas deben incluirse controles positivos y negativos.

El *control negativo* es el solvente empleado para solubilizar y diluir la muestra en estudio y deberá ser probado en ausencia y presencia de la *Mezcla S-9*.

Los *controles positivos* se emplean en las cantidades por placa que se indican a continuación:

Tabla 2. Control positivo (con activación metabólica)

Cepa	Cantidad de mutágeno por placa
TA 97a, TA 98 y TA 100	2,5 µg de 2-Amino antraceno
TA 102	5 µg de 2-Amino antraceno

En el caso del 2-Amino antraceno es necesario ensayar en ausencia y presencia de la *Mezcla S-9* ya que adquiere actividad mutagénica al ser metabolizado.

Tabla 3. Control positivo (sin activación metabólica)

Cepa	Cantidad de mutágeno por placa
TA 97a	50 µg de 9-Aminoacridina (clorhidrato.hidrato)
TA 98 y TA 1538	5 µg de Nitrofurantoína
TA 100 y TA 1535	5 µg de Azida sódica
TA 102	0,5 µg de Mitomicina C

Los mutágenos que figuran en esta tabla tienen actividad mutagénica *per se*.

Se pueden emplear otros mutágenos de probada acción sobre la cepa de interés.

Registro de los resultados

Se completará una planilla por cada una de las cepas empleadas, con y sin activación metabólica. En las mismas deben figurar los resultados de las lecturas de cada una de las tres placas, el promedio y el desvío estándar en las cinco concentraciones de muestra y en los controles.

Evaluación de los resultados

Los datos se evalúan según los siguientes criterios:

Una muestra se considera *Positiva* (mutagénica) si el número promedio de revertantes, con cualquiera de las cepas y en cualquiera de las concentraciones probadas, es al menos dos veces

mayor que el número de revertantes detectadas en el control negativo y se observa un incremento relacionado con la concentración en las revertantes por placa con la misma cepa.

Una muestra se considera *Negativa* (no mutagénica) si no hay ninguna concentración en la que se produce un número promedio de revertantes por placa superior por lo menos en dos veces al número de revertantes detectadas en el control negativo y no muestra un incremento de revertantes relacionado con la concentración.

Deben realizarse dos ensayos independientes con cada muestra.

Cuando se obtengan resultados positivos es conveniente repetir el ensayo en condiciones

idénticas a las que dieron respuesta positiva para confirmarlos. Se recomienda utilizar sólo la cepa y las condiciones que dieron respuesta positiva.

Si se obtienen resultados negativos se recomienda repetir el ensayo completo utilizando una concentración diferente de fracción S-9 ó un procedimiento diferente (por ej. preincubación en lugar de incorporación en placa).

360. ENSAYO DE TOXICIDAD ANORMAL

El siguiente ensayo se emplea para determinar una reactividad biológica inaceptable o inesperada en productos farmacéuticos. Para productos de origen biológico realizar el ensayo según se indica en *Productos biológicos*.

Procedimiento - Seleccionar cinco ratones sanos que pesen 20 ± 3 g y que no hayan sido empleados en ningún ensayo previo.

Preparar la solución muestra según se especifica en la monografía correspondiente e inyectar a cada ratón 0,5 ml de la misma por vía intravenosa.

Observar los animales durante las 48 horas posteriores a la inyección. Si al cabo de 48 horas todos los animales sobreviven y no más de uno presenta signos externos de una reacción inesperada para el nivel de toxicidad del producto, el mismo cumple con los requisitos del ensayo. Si uno de los animales muere o si más de uno presenta signos de toxicidad anormal, repetir el ensayo empleando al menos diez ratones similares a los del ensayo original que pesen 20 ± 1 g. El producto cumple con los requisitos del ensayo si a las 48 horas todos los ratones sobreviven y no presentan signos de toxicidad anormal.

Productos biológicos - Este ensayo no está indicado para productos como sangre entera, glóbulos rojos, plaquetas o plasma.

Animales - Seleccionar no menos de dos cobayos que pesen 400 ± 40 g y no menos de dos ratones que pesen 22 ± 2 g, que no hayan sido empleados en ningún ensayo previo.

Procedimiento - La duración del ensayo será de 7 días para cada especie, a menos que se especifique un período más largo en la monografía correspondiente. Cada animal debe ser pesado antes de la primera inyección y al finalizar el ensayo, registrando los pesos individualmente. La observación de los animales debe realizarse diariamente.

Los productos deben ser administrados como se detalla a continuación:

Productos líquidos o liofilizados a ser reconstituidos según se indica en el rótulo - Inyectar por vía intraperitoneal 0,5 ml del producto en cada ratón y 5 ml del producto en cada cobayo.

Productos liofilizados sin indicación de volumen de reconstitución en el rótulo y productos sólidos no liofilizados - Inyectar por vía intraperitoneal una dosis humana que no supere 1 ml a los ratones y 5 ml a los cobayos.

Interpretación de los resultados - El producto cumple con los requisitos si todos los animales sobreviven al ensayo, no presentan respuestas inesperadas al producto y el peso de los animales al finalizar el período de ensayo no es menor al que tenían al comienzo del mismo.

Si el producto no cumple con los requisitos del ensayo, repetir según se indica en *Procedimiento* empleando las especies de animales en las cuales no se cumplieron los requisitos originales. El producto cumple con los requisitos del ensayo, si los animales satisfacen el criterio especificado para el ensayo original. Si el producto no cumple con los requisitos y si han sobrevivido por lo menos el 50% de los animales (incluyendo el ensayo original y la repetición), repetir nuevamente con el doble de animales de las especies que no cumplieron los requisitos. El producto cumple los requisitos del ensayo si los animales satisfacen el criterio especificado en el ensayo original.

370. ENSAYOS DE ESTERILIDAD

El siguiente ensayo se emplea para verificar la ausencia de contaminación por microorganismos en productos esterilizados o preparados asépticamente. Durante el desarrollo del ensayo, el área de trabajo no debe estar expuesta a la luz ultravioleta directa ni sometida a otros agentes esterilizantes. Deben realizarse monitoreos microbiológicos del área durante los ensayos.

La ausencia de contaminación microbiana, evidenciada por este procedimiento, confirma que el producto cumple con los requisitos del ensayo aunque el mismo no es suficiente para suponer la esterilidad de la totalidad del lote ensayado, dadas las limitaciones inherentes a la estadística del muestreo. La condición de estéril se asegura a través de la validación del proceso de esterilización o del procesamiento aséptico.

MEDIOS DE CULTIVO

Los medios de cultivo se preparan de acuerdo a las siguientes fórmulas. También se pueden emplear fórmulas deshidratadas que luego de reconstituidas cumplan con el *Ensayo de promoción del crecimiento* y el *Ensayo de esterilidad de los medios de cultivo*.

Medio Tioglicolato

(Para incubación en condiciones aeróbicas)

L-Cistina	0,50 g
Agar (con menos de 15 % de humedad)	0,75 g
Cloruro de sodio	2,50 g
Glucosa Monohidrato	5,50 g
Extracto de levadura (soluble en agua)	5,00 g
Digerido pancreático de caseína	15,0 g
Tioglicolato de sodio *	0,50 g
Solución de resazurina sódica (0,1 %) recién preparada.....	1,00 ml
Agua purificada c.s.p.	1.000 ml

pH después de la esterilización: $7,1 \pm 0,2$.

*En caso de reemplazarse por Ácido tioglicólico emplear 0,3 ml.

Mezclar y calentar hasta disolución completa.

Ajustar el pH del medio con hidróxido de sodio 1 N para obtener, después de la esterilización, un pH de $7,1 \pm 0,2$. Filtrar en caliente, si fuera necesario, a través de un papel de filtro

humedecido. Distribuir el medio en recipientes de vidrio que mantengan una relación entre la superficie expuesta y la profundidad de medio tal que no más de la mitad superior experimente un cambio de color, indicativo de la fijación de oxígeno, al final del período de incubación. Tapar para evitar la contaminación y la evaporación excesiva del medio durante el almacenamiento. Esterilizar empleando un procedimiento validado. Enfriar inmediatamente a 25 °C. Si más del tercio superior ha tomado una coloración rosada, el medio podrá regenerarse una sola vez, calentando los recipientes en un baño de agua o con vapor fluyente, hasta que desaparezca el color. Cuando el medio está listo para emplear, no más del décimo superior debe tener un color rosado.

Caldo Tioglicolato Alternativo

(Para incubación en condiciones anaeróbicas)

L-Cisteína	0,50 g
Cloruro de sodio	2,50 g
Glucosa monohidrato	5,50 g
Extracto de levadura (soluble en agua).....	5,00 g
Digerido pancreático de caseína.....	15,0 g
Tioglicolato de sodio*.....	0,50 g
Agua purificada c.s.p.	1.000 ml

pH después de la esterilización: $7,1 \pm 0,2$.

*En caso de reemplazarse por Acido tioglicólico emplear 0,3 ml

Disolver los componentes sólidos en el agua, calentando suavemente, si fuera necesario, hasta obtener una solución. Ajustar la misma con hidróxido de sodio 1 N para obtener, después de la esterilización, un pH de $7,1 \pm 0,2$. Filtrar, si fuera necesario, transferir a recipientes apropiados y esterilizar empleando un procedimiento validado. El medio debe ser recientemente preparado o calentado en un baño de vapor y enfriado rápidamente antes de su empleo. No se debe recalentar.

Caldo Digerido de Caseína-Soja

(Para incubación en condiciones aeróbicas)

Digerido pancreático de caseína.....	17,0 g
Digerido papáinico de harina de soja.....	3,00 g

Glucosa monohidrato.....	2,50 g
Fosfato dibásico de potasio.....	2,50 g
Cloruro de sodio.....	5,00 g
Agua purificada c.s.p.....	1.000 ml

pH después de la esterilización: $7,3 \pm 0,2$.

Disolver los componentes sólidos en el agua, calentando suavemente. Enfriar la solución a temperatura ambiente y ajustar con hidróxido de sodio 1 N para obtener, después de la esterilización, un pH de $7,3 \pm 0,2$. Filtrar, si fuera necesario, y envasar en recipientes apropiados. Esterilizar empleando un procedimiento validado.

Medios para penicilinas, cefalosporinas, cefamicinas y monobactámicos

Cuando se empleen Medio Tioglicolato y Caldo Digerido de Caseína-Soja en el *Método de transferencia directa* para penicilinas o cefalosporinas, suplementarlos mediante el agregado en forma aséptica de cantidad suficiente de una beta-lactamasa apropiada para inactivar totalmente la cantidad de antibiótico presente en la muestra.

Cuando se emplee el *Método por filtración*, también puede ser necesario el agregado de una beta-lactamasa apropiada a los medios de cultivo y/o a las soluciones de enjuague.

La cantidad y/o tiempo de contacto deben ser establecidas mediante la validación del procedimiento.

ESTERILIDAD DE LOS MEDIOS DE CULTIVO

Verificar la esterilidad de cada lote incubando una muestra del mismo a la temperatura correspondiente a cada medio, durante 14 días o incubando un recipiente con medio no inoculado como control negativo en paralelo al ensayo de esterilidad.

ENSAYO DE PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO

Examinar cada lote para determinar su capacidad de promover el crecimiento microbiano a través de su inoculación en envases separados, con no más de 100 ufc de cada una de las cepas descritas en la *Tabla 1* e incubando en las condiciones especificadas.

Los medios de cultivo son aceptables si existen evidencias de crecimiento en todos los envases inoculados dentro de los 3 días de incubación para bacterias y 5 días para hongos y levaduras. El ensayo de esterilidad no es válido si el medio de

cultivo presenta una respuesta inapropiada al crecimiento microbiano.

ALMACENAMIENTO

Si los medios se almacenan en envases sellados pueden ser empleados durante no más de 1 año, pero se deben llevar a cabo los ensayos de promoción del crecimiento cada 3 meses y confirmar si cumplen con los requisitos correspondientes al color del indicador.

Si los medios se almacenan en recipientes no sellados, pueden conservarse hasta 1 mes a menos que se haya validado un período mayor que no podrá exceder los 2 meses.

Se recomienda conservar los medios de cultivo entre 2 y 25 °C.

SOLUCIONES DE LAVADO Y DILUCION

Solución A - Disolver 1 g de peptona de carne en *Agua purificada* hasta obtener 1 litro. Filtrar o centrifugar, si fuera necesario, para obtener una solución transparente. Ajustar a pH $7,1 \pm 0,2$, envasar en recipientes apropiados y esterilizar utilizando un procedimiento validado. [NOTA: cuando la *Solución A* deba ser empleada para realizar el ensayo de esterilidad de una muestra de antibióticos del tipo penicilina, cefalosporina, cefamicina o monobactámico, agregar asépticamente a la misma, una cantidad de betalactamasa estéril suficiente para inactivar el antibiótico residual en las membranas después que la solución muestra haya sido filtrada].

Solución D - Agregar 1 ml de polisorbato 80 por cada litro de *Solución A* cuando la muestra contiene lecitina, aceite o en los ensayos para determinar la esterilidad de las partes internas de dispositivos estériles por filtración a través de membrana. Ajustar a pH $7,1 \pm 0,2$. Transferir a los envases y esterilizar.

Solución K -

Peptona de carne	5,00 g
Extracto de carne	3,00 g
Polisorbato 80	10,0 g
Agua purificada c.s.p.	1.000 ml

pH después de la esterilización: $6,9 \pm 0,2$.

Distribuir en recipientes apropiados y esterilizar.

ENSAYO DE APTITUD

Antes de efectuar un ensayo de esterilidad de un producto dado, se deberá demostrar la ausencia de actividad bacteriostática y fungistática del mismo. El ensayo de aptitud deberá efectuarse cada vez que se cambia alguna condición del ensayo o cuando

exista un cambio significativo en la composición del producto.

Los microorganismos de prueba para la realización de los ensayos de actitud son los indicados en la *Tabla 1*. Es recomendable incluir al menos una cepa aislada y caracterizada del ambiente de fabricación.

Método de filtración por membrana

Filtrar la cantidad de muestra especificada en las *Tablas 2, 3 y 4*. Lavar la membrana con hasta tres porciones de 100 ml de la solución de lavado inoculando el lavado final con no más de 100 UFC de los microorganismos de prueba. Repetir el lavado en otro filtro en el que no hubo pasaje de muestra (control positivo). Colocar cada membrana o mitad de la membrana en 100 ml del medio de cultivo especificado o agregar el medio especificado al dispositivo que contiene la membrana. Repetir el procedimiento para los microorganismos y los medios especificados en la *Tabla 1* e incubar a la temperatura apropiada y bajo las condiciones señaladas por no más de 5 días.

Si el crecimiento de los microorganismos en el medio de cultivo fuera visualmente comparable al observado en el control positivo, en adelante efectuar el ensayo de esterilidad en las mismas condiciones.

Si no fuera visualmente comparable al observado en el control positivo, el producto posee propiedades bacteriostáticas y/o fungistáticas. Repetir aumentando número y volumen de lavados hasta un máximo de 5 lavados de 200 ml cada uno, y/o cambiando el tipo de membrana, y/o empleando un agente neutralizante. Si no se logró el desarrollo de los microorganismos inoculados, proceder efectuando el ensayo de esterilidad empleando el método ensayado más exigente.

Método de transferencia directa

Inocular dos recipientes de cada medio de cultivo con aproximadamente 100 ufc de los microorganismos especificados en la *Tabla 1*. El volumen de producto no debe superar el 10 % del volumen de medio de cultivo. Agregar la cantidad de muestra especificada en las *Tablas 2, 3 y 4* a uno de los recipientes. El otro será el control positivo. Repetir el procedimiento para cada cepa e incubar durante no más de 5 días.

Si el crecimiento de los microorganismos en la mezcla de producto y medio de cultivo fuera visualmente comparable al observado en los frascos de control positivo, en adelante efectuar el ensayo de esterilidad en las mismas condiciones.

Si no fuera visualmente comparable al observado en el control positivo, el producto posee

propiedades bacteriostáticas y/o fungistáticas. Repetir el ensayo empleando agentes neutralizantes estériles, como polisorbato 80, lecitina o penicilinas, o incrementar el volumen de medio. Emplear el menor volumen en el cual el crecimiento de microorganismos en presencia del producto a ensayar no es adversamente afectado. Si se incrementó el volumen del medio a 2 litros y aún se manifiestan propiedades antimicrobianas, proceder con el ensayo de esterilidad utilizando dicho volumen. En caso de ser necesario el uso de grandes volúmenes, convendrá utilizar varios recipientes de menor volumen, o esterilizar medio de cultivo concentrado para diluir antes de usar.

PROCEDIMIENTO GENERAL

El ensayo debe realizarse en condiciones asépticas bajo un flujo laminar, cuya velocidad de aire homogénea sea aproximadamente $0,45 \text{ m/s} \pm 20 \%$ en la posición de trabajo, en un área de calidad no inferior a la empleada en la fabricación. Puede realizarse de dos maneras: por transferencia directa de la muestra al medio o mediante el método de filtración por membrana. A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, emplear el método de filtración por membrana.

Apertura de envases

Limpiar la superficie exterior de los envases con un agente descontaminante apropiado y acceder al contenido de los mismos en forma aséptica.

Si el contenido de los viales fuera envasado al vacío, se deben compensar las presiones en condiciones asépticas.

Los envases de algodón purificado, gasas, apósitos quirúrgicos, suturas y materiales similares, deben abrirse mediante técnicas asépticas.

Cantidad de muestra y condiciones de incubación

Emplear los números de unidades y cantidades indicados en las *Tablas 2, 3 y 4*.

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente o en una sección de este capítulo, incubar la mezcla de ensayo no menos de 14 días con Medio Tioglicolato o Caldo Tioglicolato Alternativo a una temperatura comprendida entre 30 y 35 °C y con Caldo Digerido de Caseína-Soja a una temperatura comprendida entre 20 y 25 °C.

METODO DE FILTRACION POR MEMBRANA

Membrana - Una membrana apropiada para los ensayos de esterilidad posee un tamaño de poro no

mayor de 0,45 µm. Para minimizar la inhibición microbiana de los residuos podrán utilizarse membranas con borde hidrófobo o de baja retención. Si el producto no tiene sustancias inhibidoras puede emplearse una membrana sin borde hidrófobo, pero debe humedecerse antes de agregar la solución con el producto. Cuando el producto a ser ensayado es un aceite, es conveniente que la membrana esté completamente seca antes de realizar el ensayo.

Unidad filtrante - Es un dispositivo que posibilita la manipulación aséptica de las muestras a ensayar, permitiendo la remoción aséptica de la membrana y su incorporación al medio de cultivo o un sistema donde el medio pueda ser agregado y la membrana incubada *in situ*. El dispositivo puede ser montado y esterilizado con la membrana colocada antes de su empleo.

Soluciones acuosas - Usar para cada medio las cantidades indicadas en las *Tablas 2 y 3*. Salvo que se indique en la monografía, transferir una pequeña porción del diluyente para humedecer la membrana. Luego transferir el contenido de la muestra a la unidad filtrante, efectuar una dilución previa, si fuera necesario, y filtrar. Salvo que el producto no tenga propiedades antimicrobianas, lavar la membrana con diluyente, con o sin agregado de antagonistas, según se indica en *Ensayo de aptitud*, al menos 3 veces con no menos de 100 ml cada vez y no más de 5 lavados de 200 ml cada uno. Transferir la membrana completa o cortarla en dos partes iguales y transferir a los medios adecuados, con o sin antagonistas, según se indica en *Ensayo de aptitud*. En caso de sistemas cerrados transferir los medios a las unidades filtrantes. Incubar los medios durante no menos de 14 días.

Sólidos solubles no antibióticos - Usar para cada medio no menos de la cantidad indicada en las *Tablas 2 y 4* disuelta en *Solución A*. Proceder según se indica en *Soluciones acuosas*.

Aceites y soluciones oleosas - Usar para cada medio las cantidades indicadas en las *Tablas 2 y 3*. Si la viscosidad es baja, filtrar sin diluir utilizando la membrana completamente seca. Si la viscosidad es alta puede ser necesario diluir en un solvente estéril adecuado, como miristato de isopropilo, que demuestre no tener propiedades antimicrobianas en las condiciones del ensayo. Lavar la membrana al menos 3 veces con aproximadamente 100 ml cada vez de una solución adecuada, que puede ser *Solución A* con una concentración predeterminada de emulsionante que haya demostrado ser apropiado durante la validación del ensayo, como por ejemplo *Solución K*. Transferir la membrana o membranas a

los medios de cultivo. En caso de sistemas cerrados transferir los medios a las unidades filtrantes. Incubar los medios según lo señalado en *Soluciones acuosas*.

Ungüentos y cremas - Usar para cada medio las cantidades indicadas en las *Tablas 2 y 3 ó 4*, según corresponda. Los ungüentos con base grasa y las emulsiones, pueden diluirse al 1 % en miristato de isopropilo que demuestre no tener propiedades antimicrobianas en las condiciones del ensayo. Calentar, si fuera necesario, hasta no más de 40 °C y excepcionalmente podrá admitirse el calentamiento hasta no más de 44 °C. Filtrar tan rápidamente como sea posible y proceder según se indica en *Aceites y soluciones oleosas*.

Jeringas prellenadas - Usar para cada medio las cantidades indicadas en las *Tablas 2 y 3*. Si las jeringas tienen las agujas acopladas, vaciar el líquido a través de la misma en la unidad filtrante o en la solución diluyente. Si la jeringa tiene aguja aparte para acoplar, vaciar directamente el líquido en la unidad filtrante o en la solución diluyente. Proceder según se indica en *Soluciones acuosas*. En este último caso evaluar la esterilidad de la aguja por separado según el procedimiento de *Transferencia directa*.

Inyectables distintos de antibióticos sólidos - Usar para cada medio las cantidades indicadas en las *Tablas 2 y 4*. Reconstituir la muestra según las instrucciones de uso del producto y proceder según se indica para *Soluciones acuosas* o *Aceites y Soluciones oleosas* según corresponda. Puede ser necesario el agregado de diluyente en exceso para ayudar en la filtración.

Antibióticos sólidos en graneles y mezclas - Retirar asépticamente una cantidad suficiente de sólido de la cantidad de envases según se indica en las *Tablas 2 y 4*. Disolver en *Solución A* y proceder según se indica en *Soluciones acuosas*.

Aerosoles - Extraer la muestra asépticamente utilizando el método conveniente, por congelamiento del envase o por uso de válvula continua. Agregar al menos 100 ml de *Solución D*, mezclar suavemente y proceder según se indica en *Soluciones acuosas*.

Dispositivos médicos con guías y jeringas vacías - Pasar un volumen de *Solución D* no inferior a 10 veces el volumen de las guías o jeringas. Recoger los líquidos en un recipiente adecuado y proceder según se indica en *Soluciones acuosas*. En el caso de jeringas, si no contienen agujas acopladas o para acoplar, utilizar una aguja sólo para el propósito del ensayo.

METODO DE TRANSFERENCIA DIRECTA

Transferir directamente al medio de cultivo la cantidad de muestra indicada en las *Tablas 2 y 3 ó 4* según corresponda, de modo que el volumen de producto no sea mayor del 10 % del volumen del medio, a menos que se indique de otro modo en la monografía correspondiente.

Examinar periódicamente el medio en forma visual para comprobar si hay crecimiento microbiano hasta no menos de 14 días de incubación.

Cuando el material ensayado produce turbidez en el medio y la observación visual del crecimiento de bacterias u hongos es dificultosa, al finalizar el período de incubación, transferir porciones de no menos de 1 ml de la mezcla que contiene la muestra y el medio a envases con medio de cultivo nuevo. Se debe continuar con la incubación de ambas muestras, la inicial y la transferida por no menos de 4 días adicionales.

Líquidos oleosos - Agregar un agente emulsionante apropiado a los medios de cultivo en concentración tal que durante el ensayo de aptitud haya demostrado ser adecuado, por ejemplo Polisorbato 80 en una concentración de 10 g por litro.

Ungüentos y cremas - Realizar una dilución aproximadamente 1 en 10, agregando un agente emulsionante por ejemplo *Solución D*. Transferir el producto diluido a los medios de cultivo. Agitar diariamente, cuidando de hacerlo con suavidad en el Medio Tioglicolato para mantener las condiciones anaeróbicas.

Catgut y otros materiales de sutura para uso veterinario - Abrir el envase asépticamente y retirar 3 secciones de la hebra para cada medio de cultivo de no menos de 30 cm cada una, cortadas del principio, del medio y del final de cada hebra. Utilizar cantidad de medios para cubrir adecuadamente el material a controlar.

Sólidos - Transferir una cantidad de producto en forma de sólido seco o preparar una suspensión del producto en diluyente estéril en el envase primario. Transferir el material obtenido a 200 ml de medios de cultivo, o el volumen establecido en el *Ensayo de aptitud* y mezclar.

Algodón purificado, gasa, apósitos quirúrgicos y dispositivos relacionados - De cada envase de algodón, gasa o apósitos, extraer asépticamente 2 o más porciones de 100 a 500 mg cada una, de la parte más interna del envase. Si se trata de artículos descartables envasados individualmente, usar todo el contenido del envase. Sumergir en cada uno de los medios de cultivo.

Dispositivos médicos estériles - Sumergir los dispositivos completamente, ensamblados o desmontados, en cantidad suficiente de medios de cultivo, asegurando que la parte interna de los tubos o conductos estén en contacto con el líquido. Si el dispositivo es demasiado grande, sumergir completamente las porciones que deben entrar en contacto directo con el paciente. Para catéteres en los que se requiere la esterilidad del lumen interno y de la parte externa, cortar en piezas para que todo esté en contacto con el medio.

OBSERVACIÓN E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

A intervalos, durante y al final del período de incubación, examinar los medios de cultivo en busca de evidencia macroscópica de desarrollo microbiano. Si no hay tal evidencia, la muestra cumple con el ensayo de esterilidad. Si en cambio hay evidencia de desarrollo microbiano, la muestra no cumple con el ensayo, a menos que pueda demostrarse claramente que el ensayo es inválido y que la causa de la contaminación no está relacionada con el producto. Sólo puede invalidarse el ensayo si: a) los resultados del monitoreo ambiental de las instalaciones donde se efectuó el ensayo demostraron falla, b) se demuestra que el procedimiento utilizado para el ensayo no fue el adecuado, c) hubo desarrollo microbiano en los controles negativos, d) la identificación del contaminante aislado revela inequívocamente que hubo fallas con respecto al material o a la técnica usados.

Si la prueba se declara inválida, se repetirá con el mismo número de unidades de la prueba original. Si no hay desarrollo microbiano en la repetición, el producto cumple con el ensayo de esterilidad. Si en cambio hay desarrollo microbiano, el producto no cumple con el ensayo.

Tabla 1

Medio	Microorganismos de prueba	Incubación	
		Temperatura	Condiciones
Medio Tioglicolato	(1) <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538) ⁽¹⁾	30 - 35 °C	Aeróbicas
	(2) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 9027) ⁽²⁾	30 - 35 °C	
	(3) <i>Clostridium sporogenes</i> (ATCC 11437) ⁽³⁾	30 - 35 °C	
Caldo Tioglicolato Alternativo ⁽⁴⁾	(1) <i>Clostridium sporogenes</i> (ATCC 11437)	30 - 35 °C	Anaeróbicas
Caldo Digerido de Caseína - Soja	(1) <i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)	20 - 25 °C	Aeróbicas
	(2) <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)	20 - 25 °C	
	(3) <i>Aspergillus niger</i> (ATCC 16404)	20 - 25 °C	

(1) Como alternativa al *Staphylococcus aureus*, puede emplearse *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

(2) Como alternativa a *Pseudomonas aeruginosa*, puede utilizarse *Kocuria rhizophila* ATCC 9341.

(3) Como alternativa a *Clostridium sporogenes* y en caso de no ser requerido un esporoformador, puede utilizarse *Bacteroides vulgatus* ATCC 8482.

(4) Utilizar para test de esterilidad de dispositivos médicos que contienen tubos de pequeño diámetro.

NOTA: PUEDEN UTILIZARSE CEPAS ATCC O CEPAS APTAS PARA TALES FINES PERTENECIENTES A COLECCIONES DE CULTIVOS MICROBIANOS RECONOCIDAS POR LA WFCC (WORLD FEDERATION OF CULTURE COLLECTIONS).

Tabla 2. Número mínimo de unidades a ensayar en relación al tamaño del lote

Tamaño del lote	Mínimo número de unidades muestreadas para cada medio *
<i>Productos inyectables</i>	
≤ 100 unidades	10% ó 4 (el que sea mayor)
> 100 - ≤ 500	10
> 500	2% ó 20 (el que sea menor)
Parenterales de gran volumen	2% ó 10 (el que sea menor)
<i>Antibióticos sólidos</i>	
Envases de < 5 g	20
Envases de ≥ 5 g	6
Graneles y mezclas	Ver <i>Granel de productos sólidos</i>
<i>Productos no inyectables</i>	
≤ 200	5% ó 2 (el que sea mayor)
> 200	10
<i>Dispositivos médicos</i>	
≤ 100	10% ó 4 (el que sea mayor)
> 100 - ≤ 500	10
> 500	2% ó 20 (el que sea menor)
<i>Granel de productos sólidos</i>	
≤ 4 envases	Todos
> 4 - ≤ 50	20% ó 4 (el que sea mayor)
> 50	2% ó 10 (el que sea mayor)

* Si el contenido de un envase es suficiente para inocular los dos medios, esta columna indica el número de envases

Tabla 3. Cantidades para productos líquidos

<i>Contenido del envase (ml)</i>	<i>Volumen mínimo de cada envase para cada medio</i>
< 1	Todo el contenido
1 - ≤ 40	La mitad del contenido de c/u, y no menos de 1ml
>40 - ≤ 100	20 ml
>100	10% del volumen y no menos de 20 ml
Antibióticos (líquidos)	1 ml

Tabla 4. Cantidades para productos sólidos

<i>Contenido del envase</i>	<i>Cantidad mínima de cada envase para cada medio</i>
< 50 mg	Contenido completo
50 mg - < 300 mg	Mitad del contenido pero no menos de 50 mg
300 mg - ≤ 5 g	150 mg
>5 g	500 mg
Antibióticos	150 mg
Algodón, gasa	100 mg
Suturas y otros materiales	Envase completo
Descartables	
Dispositivos médicos	Dispositivo completo

383. ENSAYOS DE SUTURAS

IDENTIFICACIÓN

Las suturas no absorbibles pueden identificarse con ensayos químicos. Los materiales de origen natural pueden identificarse también mediante examen microscópico de la morfología de estas fibras. Para materiales sintéticos, puede utilizarse también la identificación por espectrofotometría de absorción en el infrarrojo o calorimetría diferencial de barrido.

Lino

Definición - La sutura de lino estéril se compone de las fibras pericíclicas del tallo de *Linum usitatissimum* L. Las fibras básicas de 2,5 a 5 cm de largo se ensamblan en haces de 30 a 80 cm de longitud y se hilan en longitudes continuas de diámetro predeterminado.

Identificación

A - Cortar el extremo de una sutura. Separar algunas fibras con una aguja o una pinza fina. Cuando se examina al microscopio deben observarse fibras de 12 a 31 μm de ancho, y a lo largo de su longitud presentan paredes gruesas, marcadas algunas veces con finas estriaciones longitudinales y un lumen estrecho. Las fibras se estrechan gradualmente, terminando en una punta fina. Algunas veces se encuentran engrosamientos unilaterales con líneas transversales.

B - Impregnar las fibras aisladas con solución de cloruro de zinc iodado (SR). Las fibras deben tomar un color azul-violeta.

Poliamida-6*

Definición - La sutura quirúrgica estéril de poliamida-6 está constituida por monofilamentos cilíndricos lisos o filamentos trenzados lisos, o bien hilos ligeramente retorcidos revestidos en el mismo material. Se obtiene pasando a través de una matriz determinada un material plástico sintético proveniente de la polimerización de ϵ -caprolactama. Las suturas pueden teñirse con un colorante atóxico

Caracteres generales - Es prácticamente insoluble en solventes orgánicos. No es atacada por soluciones alcalinas diluidas (ej. solución de hidróxido de sodio al 10 %) pero es atacada por ácidos minerales diluidos (ej. solución de ácido sulfúrico al 2 %), ácido acético glacial caliente y solución 70 % p/p de ácido fórmico anhidro.

[NOTA: * el nombre Nylon -6 como sinónimo de poliamida-6 puede usarse en algunos países y no en otros por derechos de propiedad exclusivos.]

Identificación

A - Calentar 50 mg de sutura con 0,5 ml de ácido clorhídrico 25 % p/p en un tubo de ensayo cerrado a 110° C durante 18 horas, y luego dejar reposar durante 6 horas. No deben observarse cristales.

B - 50 mg de sutura se disuelven en 20 ml de una solución 70 % p/p de ácido fórmico anhidro.

Monómeros y oligómeros

La poliamida-6 cumple con un ensayo adicional: en un aparato de extracción continua tratar 1 g de sutura con 30 ml de metanol efectuando tres extracciones por hora durante 7 horas, evaporar a sequedad y secar el residuo a 110 °C durante 10 minutos, dejar enfriar en un desecador y pesar. El residuo no debe pesar más de 20 mg (2 %).

Poliamida- 6/6*

Definición - La sutura quirúrgica estéril de poliamida 6/6 está constituida por monofilamentos cilíndricos lisos o filamentos trenzados lisos, o bien hilos ligeramente retorcidos revestidos en el mismo material. Se obtiene por pasaje a través de una matriz determinada de un material plástico sintético proveniente de la policondensación de hexametilenediamina y ácido adípico. Las suturas pueden teñirse con un colorante atóxico

Caracteres generales - Es prácticamente insoluble en solventes orgánicos. No es atacada por soluciones alcalinas diluidas (ej. solución de hidróxido de sodio al 10 %) pero es atacada por ácidos minerales diluidos (ej. solución de ácido sulfúrico al 2 %), ácido acético glacial caliente y solución 80 % p/p de ácido fórmico anhidro.

Identificación

A - Al contacto con la llama se funde y arde formando un glóbulo residual duro y emite un olor característico parecido al apio.

B - Colocar 50 mg de sutura en un tubo de ignición sostenido en posición vertical y calentar suavemente hasta que se desprenda un humo espeso, cuando el humo llena el tubo retirar de la llama e introducir una tira de papel de nitrobenzaldehído (Sumergir la mitad inferior de una tira de papel de filtro de 10 cm de largo y de 0,8 a 1 cm de ancho, en una solución preparada una hora antes de su uso, disolviendo 0,2 g de nitrobenzaldehído en 10 ml de una solución de hidróxido de sodio 200 g en un litro. Absorber el exceso de reactivo entre dos hojas de papel de filtro y emplear inmediatamente). Aparece lentamente un

color pardo violeta en el papel que se esfuma lentamente en el aire. El color desaparece de inmediato por lavado con ácido sulfúrico 1 M.

C - A 50 mg de sutura agregar 10 ml de ácido clorhídrico 25 %p/p. El material se desintegra en frío y se disuelve en pocos minutos.

D - 50 mg no se disuelven en 20 ml de solución de ácido fórmico anhidro al 70 % p/p pero se disuelven en 20 ml de solución de ácido fórmico anhidro al 80 % p/p.

Polietilentereftalato (poliéster)

Definición - Se obtiene trenzando un número determinado de filamentos muy finos, obtenidos por pasaje de polietilentereftalato a través de una matriz predeterminada; pudiendo ser blanquecino o coloreado con colorantes o pigmentos autorizados

Caracteres generales - Es prácticamente insoluble en la mayoría de los solventes orgánicos, pero es atacado por soluciones alcalinas fuertes. Es incompatible con fenoles.

Identificación

A - 50 mg de sutura se disuelven con dificultad al calentar con 50 ml de dimetilformamida.

B - Añadir 10 ml de ácido clorhídrico 25 % p/p a 50 mg de sutura. El material debe permanecer intacto después de 6 hs de inmersión.

Polipropileno

Definición - La sutura de polipropileno se obtiene pasándola a través de una matriz predeterminada. Se presenta como monofilamentos cilíndricos.

Caracteres generales - El polipropileno es soluble en decahidronaftaleno, 1-cloronaftaleno y tricloroetileno. No es soluble en alcohol, éter y ciclohexanona.

Identificación

A - Se ablanda entre 160 y 170 °C. Arde con llama azul, emitiendo un olor de parafina quemada y de alcohol octílico.

B - Añadir 10 ml de tolueno a 0,25 g de sutura y calentar a reflujo durante 15 minutos. Llevar a ebullición con un condensador de reflujo durante aproximadamente 15 minutos. Colocar unas gotas de la solución sobre un disco de cloruro de sodio, correr y evaporar el solvente en estufa a 80 °C. Examinar por espectrofotometría infrarroja <460>. *Espectrofotometría infrarroja*), comparándolo con el espectro obtenido para el polipropileno.

C - Añadir 100 ml de agua a 2 g de sutura y hervir bajo condensador de reflujo durante 2 horas. Dejar enfriar. La densidad relativa de la muestra

determinada con una balanza hidrostática, debe estar comprendida entre 0,89 y 0,91 g/ml. <160>

Seda trenzada

Definición - La Sutura Seda Trenzada, se obtiene trenzando un número de hebras según el diámetro requerido de la seda desgomada obtenida de los capullos del gusano de seda *Bombix mori* L. La sutura puede colorearse con pigmentos o colorantes aprobados. Ver 50. *Colorantes de uso farmacéutico*.

Identificación

A - Cortar el extremo de una sutura. Aislar algunas hebras con una aguja o pinza fina. Cuando se examinan al microscopio las hebras pueden presentar estriaciones longitudinales muy finas, paralelas a su eje, la sección transversal es aproximadamente triangular o semicircular, con los extremos redondeados y sin lumen.

B - Impregnar algunas hebras aisladas con solución yodada de yoduro de potasio, preparada disolviendo 2 g de yodo y 4 g de yoduro de potasio en 10 ml de agua, completar a 100 ml con agua. Las mismas toman un color amarillo pálido.

Acero inoxidable

Definición - Las suturas quirúrgicas estériles de acero inoxidable mono y multifilamento tienen una composición química según normas internacionales vigentes. Están formadas por monofilamentos cilíndricos, o filamentos retorcidos o trenzados lisos.

Identificación

Se identifican verificando que su composición está de acuerdo con normas internacionales vigentes.

DIÁMETRO

Se utiliza calibrador del tipo de peso muerto, mecánico o eléctrico, equipado con un dial de lectura directa, un visor digital o una impresora. Emplear un calibre graduado de 0,002 mm o menor. El yunque es de aproximadamente 50 mm de diámetro, y el pie compresor es aproximadamente de 12,70 de diámetro. Graduar el pie compresor y las partes móviles conectadas a éste de manera que se aplique una carga total de 210 ± 3 g a la muestra. Las superficies del pie compresor y del yunque son planas, con desviaciones no mayores de 0,005 mm, y paralelas entre sí con una aproximación de 0,005 mm. Para medir el diámetro de las suturas de 0,4 mm y menor tamaño métrico, retirar el peso adicional del pie compresor para que la carga total sobre la sutura no exceda de 60 g.

Sutura de colágeno - Se mide el diámetro inmediatamente después de haberla retirado del envase primario y extendido sin irregularidades ni tensión. Colocar el hilo entre el centro del yunque y el pie compresor y bajar suavemente el pie hasta que todo su peso descansa sobre la sutura. Medir el diámetro de cada hilo en tres puntos correspondientes, aproximadamente a un cuarto, a la mitad y a tres cuartos de su longitud.

Sutura quirúrgica no absorbible - Colocar el hilo a través del centro del yunque y el pie compresor y bajar suavemente el pie hasta que todo su peso descansa sobre la sutura. Medir las suturas no absorbibles, ya sea que estén envasadas en seco o en líquido, inmediatamente después de haberlas retirado del envase, sin secado ni acondicionamiento previo. Se mide el diámetro de la sutura en tres puntos correspondientes, aproximadamente a un cuarto, a la mitad y a tres cuartos de su longitud. En el caso de suturas trenzadas de tamaños mayores de 000 (tamaño métrico 2), hacer dos mediciones en cada punto, una en ángulo recto respecto de la otra, y emplear el promedio como el diámetro observado en ese punto.

Sutura quirúrgica absorbible sintética - Se procede según se indica para *Sutura quirúrgica no absorbible*.

Suturas de multifilamento - Fijar una porción de la sección designada del hilo en una pinza fija, de manera que el hilo quede sobre el centro del yunque. Mientras se sostiene el hilo en el mismo plano que la superficie del yunque, someter el hilo a

tensión por medios adecuados, como por ejemplo, pasando el extremo libre del hilo alrededor de un cilindro o polea uniéndolo a una pesa de aproximadamente la mitad del valor mínimo de resistencia a la tensión para la sutura de Clase I del tamaño en cuestión, con cuidado de no dejar que el hilo, si fuera retorcido, pierda la torsión. Medir el diámetro en los puntos designados en el hilo y calcular el diámetro promedio según las indicaciones dadas.

ENGARZADO DE AGUJAS

Las suturas quirúrgicas absorbibles (de colágeno y sintéticas) y las no absorbibles pueden tener agujas sujetas firmemente.

Procedimiento - Tomar cinco suturas y colocar una por una en el tensilómetro, sujetando la aguja con la pinza fija, dejando toda la parte engarzada expuesta, y en la misma dirección de la fuerza que ejerce la pinza móvil sobre la sutura. Determinar la fuerza necesaria para desprender la sutura de la aguja. La sutura puede romperse sin desprenderse de la aguja. El engarzado cumple con los requisitos si el promedio de los cinco valores y ningún valor individual es inferior al límite fijado para el tamaño especificado en la *Tabla*.

Si no más de uno de los valores individuales se encuentra fuera de los límites establecidos, repetir la prueba con diez suturas adicionales. Cumple con los requisitos si ninguno de los diez valores adicionales se encuentra fuera de los requisitos del límite individual.

Tabla. Engarzado de aguja estándar para suturas absorbibles y no absorbibles

NÚMERO	Diámetro (mm)		Límites de engarzado de aguja				
	Sutura convencional	Sutura absorbible de colágeno	Sutura no absorbible y absorbible sintética	Promedio (mínimo) (kgf)	Individual (mínimo) (Newton)	Promedio (mínimo) (kgf)	Individual (mínimo) (Newton)
11/0			0,1	0,007	0,069	0,005	0,049
10/0			0,2	0,014	0,137	0,010	0,098
9/0	0,4		0,3	0,021	0,206	0,015	0,147
8/0	0,5		0,4	0,050	0,490	0,025	0,245
7/0	0,7		0,5	0,080	0,784	0,040	0,392
6/0	1		0,7	0,17	1,67	0,08	0,784
5/0	1,5		1	0,23	2,25	0,11	1,08
4/0	2		1,5	0,45	4,41	0,23	2,25
3/0	3		2	0,68	6,67	0,34	3,33
2/0	3,5		3	1,10	10,8	0,45	4,41
0	4		3,5	1,50	14,7	0,45	4,41
1	5		4	1,80	17,6	0,60	5,88
2 y superior	6 y superior		5 y superior	1,80	17,6	0,70	6,86

RESISTENCIA A LA TENSIÓN

Determinar la resistencia a la tensión de las suturas quirúrgicas en un instrumento que emplee el principio de velocidad de carga constante sobre la muestra o el principio de velocidad de elongación constante de la muestra, según se describe a continuación. El aparato tiene dos pinzas para sostener un hilo de la sutura. Una de estas pinzas es móvil. Las pinzas están diseñadas para que la sutura que se va a probar pueda ser fijada sin que se deslice. La longitud ensayada se define como la distancia interior entre las dos pinzas. Debe ser entre 125 a 200 mm y la pinza móvil ser accionada a una velocidad de elongación constante de 30 ± 5 cm por minuto. Medir la resistencia a la tensión de la sutura, ya sea que esté envasada en seco o con líquido, inmediatamente después de haberla retirado del envase, sin secado ni acondicionamientos previos. Sujetar uno de los extremos de la sutura a la pinza del extremo de carga de la máquina, pasar el otro extremo a través de la pinza opuesta, aplicando tensión suficiente para que la muestra quede tirante entre las pinzas, y cerrar la segunda pinza. Realizar tantas determinaciones como las especificadas en la monografía individual. Si la ruptura ocurre en cualquiera de las pinzas, descartar la lectura de la muestra.

Procedimiento para un instrumento que opera por el principio de velocidad de carga constante sobre la muestra - Esta descripción se aplica al instrumento conocido como Comprobador de Plano inclinado. El carro empleado en cualquier prueba es de un peso tal que al ocurrir la ruptura, la posición de la pluma registradora sobre la gráfica queda entre 20 y 80 % de la capacidad que pueda registrarse en la gráfica. La fricción en el carro es suficientemente baja como para permitir que la pluma registradora se aparte de la línea cero de la gráfica en un punto que no exceda el 2,5 % de la capacidad de la gráfica cuando no haya ninguna muestra sujeta entre las pinzas.

Para suturas quirúrgicas de tamaños intermedios y más gruesas, la pinza para sostener la muestra es del tipo rodillo, con una superficie de sujeción plana. El rodillo tiene un diámetro de 19 mm y la superficie de sujeción plana no es menor de 25 mm de longitud. La longitud de la muestra, una vez que se inserta en las pinzas, es de por lo menos 127 mm de un extremo a otro. La velocidad de inclinación del plano del comprobador es tal que alcanza su inclinación máxima de 30° sobre la horizontal en 20 ± 1 segundo desde el comienzo de la prueba.

Para suturas quirúrgicas de menor calibre, la pinza apropiada tiene una superficie de sujeción plana de no menos de 13 mm de longitud. La

velocidad de inclinación del plano es tal que alcanza su inclinación máxima de 30° sobre la horizontal en 60 ± 5 segundos desde el comienzo de la prueba.

Salvo cuando en la monografía individual se indica tracción recta, sin nudo, atar la sutura de prueba realizando un nudo de cirujano con una vuelta de sutura, alrededor de un tubo de goma flexible con un diámetro interno de 6,5 mm y un espesor de pared de 1,6 mm. El nudo de cirujano es un nudo en el cual el extremo libre se pasa primero dos veces por el lazo, en lugar de una vez, y se ajusta tirante, luego se pasa una vez por un segundo lazo y se tensan los extremos de manera que quede un nudo sencillo superpuesto a un nudo doble. Comenzar el primer nudo con el extremo izquierdo sobre el extremo derecho, ejerciendo tensión suficiente para atar el nudo con firmeza. Cuando la muestra de prueba incluya un nudo, colocar la muestra en el dispositivo de prueba con el nudo aproximadamente a media distancia entre las pinzas. Dejar el tubo de goma flexible en su lugar mientras dure la prueba.

Procedimiento para un instrumento que opera por el principio de velocidad de elongación constante de la muestra - Excepto cuando en la monografía individual se indique tracción recta, sin nudo, atar la sutura de prueba por medio de un nudo simple, colocando un extremo del hilo, sostenido con la mano derecha, por encima del otro extremo, sostenido con la mano izquierda, pasando un extremo sobre el hilo y a través del lazo que se formó y luego ajustando el nudo con firmeza. La muestra se coloca en el dispositivo de prueba con el nudo aproximadamente a media distancia entre las pinzas.

[NOTA: *Calibre*: se puede expresar en forma de calibre métrico que representa el grosor de la sutura en décimas de milímetro: métrico 0,1 (0,010-0,019 mm) a métrico 10 (1,00-1,09 mm), o bien, en calibre convencional, que expresa el grosor en forma convencional: 11/0 (0,010-0,019 mm) a calibre 6 (1,00-1,09 mm).]

385. ENSAYOS EN HEMODERIVADOS

VALORACIÓN DE ANTITROMBINA III HUMANA

Estimar la potencia del Concentrado de Antitrombina III Humana por comparación de su habilidad para inactivar trombina en presencia de un exceso de heparina con la misma habilidad de una sustancia de referencia de antitrombina III humana calibrada en UI. Mezclar cantidades variables de antitrombina III con una cantidad dada de trombina y determinar el remanente de trombina mediante un sustrato cromogénico apropiado.

La Unidad Internacional es la actividad de antitrombina III de una cantidad establecida de Patrón Internacional de antitrombina III. La equivalencia en Unidades Internacionales del Patrón Internacional la establece la Organización Mundial de la Salud.

Aplicar la siguiente técnica.

Soluciones reguladoras - Emplear Tris-EDTA pH 8,4 y Tris-EDTA BSA pH 8,4 (ver *Soluciones reguladoras en Reactivos y Soluciones*).

Solución reguladora para dilución - Preparar una solución de Tris-EDTA BSA pH 8,4 que contenga 15 UI de heparina por ml.

Solución de trombina bovina - Preparar una solución que contenga 2 UI de trombina bovina por ml de solución reguladora Tris-EDTA BSA pH 8,4.

Sustrato cromogénico - *D-fenilalanil-L-pipecolil-L-arginina-4-nitroanilida* reconstituido en agua para obtener una solución 4 mmol por litro.

Preparación estándar - Diluir la sustancia de referencia de antitrombina III humana calibrada en UI con *Solución reguladora para dilución* para obtener una solución que contenga una 1 UI de antitrombina III por ml. Realizar por duplicado y en forma independiente por lo menos tres diluciones en el rango de 1/75 a 1/200 en progresión geométrica o aritmética utilizando la misma *Solución reguladora*.

Preparación muestra - Diluir El Concentrado de Antitrombina III Humana con *Solución reguladora* para obtener una solución que contenga 1 UI de antitrombina III por ml. Realizar por duplicado y en forma independiente por lo menos tres diluciones en el rango de 1/75 a 1/200 en progresión geométrica o aritmética utilizando la misma *Solución reguladora*.

Procedimiento - Según el ensayo se realice en tubos o en microplacas, ajustar los volúmenes de manera que se mantengan las proporciones de la mezcla. Realizar dos reacciones de cada dilución.

Precalear 200 μ l de cada dilución de la *Preparación muestra* y de la *Preparación estándar* a 37 °C durante 1 a 2 minutos. Agregar a cada dilución 200 μ l de *Solución de trombina bovina*, mezclar y mantener a 37 °C durante 1 minuto. Agregar 500 μ l de *Sustrato cromogénico* diluido hasta una concentración apropiada para el ensayo usando solución reguladora Tris-EDTA BSA pH 8,4 (sin albúmina). Medir inmediatamente el cambio de las absorbancias a 405 nm durante al menos 30 segundos. Calcular el valor de $\Delta A/\text{min}$. Alternativamente puede llevarse a cabo un ensayo de punto final deteniendo la reacción con ácido acético y midiendo la absorbancia a 405 nm o también es posible detener la reacción de hidrólisis tras un intervalo apropiado bajando el pH mediante el agregado de un reactivo apropiado, como ácido acético al 50 %v/v o una solución de citrato 1 M a pH 3. El valor de cambio de absorbancia ($\Delta A/\text{min}$) o A es inversamente proporcional a la actividad de antitrombina III. Calcular la potencia de la muestra a examinar y comprobar la validez del ensayo empleando los métodos estadísticos habituales (ver 10. *Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos*).

VALORACIÓN DE HEPARINA EN FACTORES DE COAGULACIÓN

El método para determinar la actividad de heparina en factores de coagulación es un ensayo cromogénico en el cual se estima su actividad por su efecto inhibitorio sobre el factor Xa (actividad anti-Xa). La potencia de heparina se estima comparando su actividad inhibitoria con un Patrón Internacional o Patrón Nacional calibrado en Unidades Internacionales.

La Unidad Internacional es la actividad de heparina en una cantidad establecida de patrón Internacional. La equivalencia en Unidades Internacionales del Patrón Internacional la establece la Organización Mundial de la Salud.

El método cromogénico de valoración consiste en los siguientes pasos: la formación del complejo heparina-antitrombina III, en el cual se debe asegurar un exceso de antitrombina III en el medio en el que se produce la reacción, la formación del complejo heparina antitrombina III-factor Xa, en el cual el factor Xa debe estar en exceso, y el clivaje enzimático de un sustrato cromogénico específico para factor Xa (residual) para dar un cromóforo que puede ser cuantificado espectrofotométricamente. Bajo condiciones adecuadas, existe una relación

inversamente proporcional entre la actividad de heparina y el clivaje del sustrato cromogénico.

Reactivos

Solución reguladora para diluciones - Solución de 6,05 g por litro de Tris(hidroximetil)aminometano, si es necesario, ajustar el pH a 8,4 con ácido clorhídrico.

Sustrato cromogénico del factor Xa - Un sustrato cromogénico específico para factor Xa tal como cloruro de *N*-benzoil-*L*-isoleucil-*L*-glutamil-glicil-*L*-arginina-4-nitroanilida. Reconstituir según se indica en el rótulo.

Solución de antitrombina III

Solución de factor Xa bovino

Plasma humano normal

Preparación estándar - Diluir con *Solución reguladora para diluciones* para obtener una solución de 0,1 UI por ml de heparina.

Preparación muestra - Diluir la preparación en ensayo con *Solución reguladora para diluciones* para obtener una solución de 0,1 UI de heparina por ml.

Procedimiento - Las siguientes condiciones de trabajo se aplican a placas de 96 pocillos. Si el ensayo es llevado a cabo en tubos, los volúmenes deben ser ajustados manteniendo la proporción en la mezcla. Inmediatamente antes de iniciar el ensayo, calentar todas las soluciones en un baño de agua a 37 °C. Distribuir en una serie de tubos o pocillos de la placa, preferentemente por duplicado, 20 µl de *Plasma humano normal* y 20 µl de *Solución de antitrombina III*. Agregar a los tubos o pocillos volúmenes crecientes en progresión aritmética (por ejemplo 20 µl, 60 µl, 100 µl y 140 µl) de la *Preparación muestra* o la *Preparación estándar* y completar a un volumen final de 200 µl empleando *Solución reguladora para diluciones* (0,02 a 0,08 UI por ml de heparina en la mezcla final de reacción). Las concentraciones se pueden modificar si con ellas se obtienen una mejor linealidad en la relación dosis-respuesta. Transferir 40 µl de cada tubo o pocillo a una segunda serie de los pocillos, agregar 20 µl de *Solución de factor Xa bovino* e incubar a 37 °C durante 30 segundos.

Método de punto final - Agregar 40 µl de una solución 1 mmol por litro de *Sustrato cromogénico del factor Xa* e incubar a 37 °C durante 3 minutos. Finalizar la reacción disminuyendo el pH por agregado de un reactivo adecuado tal como una solución al 20 % v/v de ácido acético glacial y medir la absorbancia (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) a 405 nm. En general, los tiempos de reacción están comprendidos entre 3 y 15 minutos, pero se admiten variaciones si así se obtiene una

mejora en la linealidad de la relación dosis-respuesta.

Método cinético - Agregar 40 µl de una solución 2 mmol por litro de *Sustrato cromogénico del factor Xa*, incubar a 37 °C y cuantificar la velocidad de liberación del sustrato, que debe ser inversamente proporcional a la concentración de heparina, midiendo en un espectrofotómetro el cambio de absorbancia a una longitud de onda apropiada por monitoreo continuo de la absorbancia. Determinar la velocidad de cambio de absorbancia a 405 nm continuamente por un período de tiempo y obtener la velocidad media del cambio de absorbancia ($\Delta A/\text{min}$).

Comprobar la validez del ensayo y calcular la actividad de heparina en la preparación a examinar por los métodos estadísticos habituales para un ensayo de relación de pendientes (ver 10. *Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos*).

FACTORES DE COAGULACIÓN ACTIVADOS

[NOTA: cuando corresponda, determinar la cantidad de heparina presente y neutralizarla por agregado de sulfato de protamina (10 µg de sulfato de protamina neutralizan 1 UI de heparina).]

Preparar diluciones 1 en 10 y 1 en 100 de la preparación en ensayo empleando una solución reguladora tris(hidroximetil)aminometano pH 7,5 (ver *Soluciones reguladoras* en *Reactivos y Soluciones*). Colocar en un baño de agua a 37 °C una serie de tubos de poliestireno y agregar a cada tubo 0,1 ml de plasma pobre en plaquetas y 0,1 ml de una dilución apropiada de cefalina o sustituto de plaquetas. Dejar en reposo durante 60 segundos. Agregar a cada tubo 0,1 ml de una de las diluciones o 0,1 ml de solución reguladora (tubo control). Inmediatamente agregar a cada tubo 0,1 ml de una solución de cloruro de calcio 3,7 g por litro (precalentada a 37 °C) y medir el tiempo que transcurre entre el agregado del cloruro de calcio y la formación de un coágulo. El ensayo debe realizarse en un tiempo no mayor a 30 minutos luego de haber realizado la dilución original. El ensayo solo es válido si el tiempo de coagulación medido para el tubo control esté entre 200 y 350 segundos.

VALORACIÓN DEL FACTOR II DE COAGULACIÓN SANGUÍNEA

El método para determinar la actividad de factor II de coagulación es un ensayo cromogénico en el cual se determina la actividad de factor II a través de su activación específica y formación de factor IIa. La potencia de la preparación de factor II se estima comparando su actividad con un Patrón

Internacional o una sustancia de referencia calibrada en Unidades Internacionales.

La Unidad Internacional es la actividad de factor II de una cantidad establecida de Patrón Internacional que consiste en un concentrado liofilizado de factor II humano. La equivalencia en Unidades Internacionales del Patrón Internacional la establece la Organización Mundial de la Salud.

El método cromogénico de valoración consiste en dos pasos: la activación del factor II a factor IIa dependiente de veneno de serpiente y el clivaje enzimático de un sustrato cromogénico específico para factor IIa, para dar un cromóforo que puede ser cuantificado espectrofotométricamente. Bajo condiciones adecuadas, existe una relación lineal entre la actividad del factor IIa y el clivaje del sustrato cromogénico.

Reactivos

Solución reguladora para dilución - Solución que contiene 6,06 g por litro de Tris(hidroximetil)aminometano, 17,53 por litro de cloruro de sodio, 2,79 g por litro de ácido (etilendinitrilo)tetracético y 1 g por litro de albúmina bovina o albúmina humana. Ajustar a pH 8,4 si fuera necesario, con ácido clorhídrico.

Veneno de víbora específico para activar factor II (Ecarina) - Se trata de una proteína derivada del veneno de víbora (*Echis carinatus*) que activa específicamente el factor II. Reconstituir y almacenar según se indica en el rótulo.

Sustrato cromogénico para Factor IIa - Sustratos cromogénicos específicos para factor IIa tales como: *H-D*-fenilalanil-*L*-pipecolil-*L*-arginina-4-nitroanilida clorhidrato, 4-toluensulfonil-glicilprolil-*L*-arginina-4-nitroanilida, *H-D*-ciclohexilglicil- α -aminobutiril-*L*-arginina-4-nitroanilida, diacetato de *D*-ciclohexilglicil-*L*-alanil-*L*-arginina-4-nitroanilida. Reconstituir según se indica en el rótulo.

Preparación estándar - Diluir con *Solución reguladora para dilución* para obtener una solución entre 0,015 y 0,16 UI por ml de factor II. Preparar, preferentemente por duplicado y en forma independiente, al menos tres diluciones en progresión geométrica o aritmética empleando el mismo solvente.

Preparación muestra - Diluir con *Solución reguladora para dilución* para obtener una solución entre 0,015 y 0,16 UI por ml de factor II. Preparar, preferentemente por duplicado y en forma independiente, al menos tres diluciones en progresión geométrica o aritmética empleando el mismo solvente.

Procedimiento - Precalentar todas las soluciones en un baño de agua a 37 °C inmediatamente antes de realizar el ensayo. Las siguientes condiciones de ensayo se utilizan para placas de

96 pocillos, si el ensayo se lleva a cabo en tubos, se deben ajustar los volúmenes de manera que se mantengan las proporciones de la mezcla; se deben realizar dos reacciones de cada dilución. En una placa de 96 pocillos mantenida a 37 °C, agregar por duplicado 25 μ l de cada dilución de la *Preparación muestra* o la *Preparación estándar* a cada uno de los pocillos. Agregar 125 μ l de solución reguladora a cada pocillo, luego 25 μ l de *Veneno de víbora específico para activar factor II* e incubar durante exactamente 2 minutos. A cada pocillo agregar 25 μ l de *Sustrato cromogénico para Factor IIa*. Se admiten modificaciones de volúmenes de los reactivos si con ellas se obtiene una mejor linealidad en la relación dosis-respuesta. Determinar la velocidad de cambio de absorbancia (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) a 405 nm de forma continua durante 3 minutos y obtener el promedio de velocidad de cambio de absorbancia ($\Delta A/\text{min}$). Si no se puede medir en forma continua, leer la absorbancia a 405 nm a intervalos consecutivos adecuados, durante 40 segundos, graficar la absorbancia en función del tiempo y calcular $\Delta A/\text{min}$ como la pendiente de la recta. El método se puede adaptar a una reacción de punto final deteniendo la reacción de hidrólisis tras un intervalo apropiado bajando el pH por adición de un reactivo apropiado como ácido acético (50 % v/v) o una solución de citrato 1M a pH 3. Ajustar el tiempo de hidrólisis para conseguir un incremento lineal del cromóforo a lo largo del tiempo. Con los valores de $\Delta A/\text{min}$ o de A de cada dilución tanto de muestra como de estándar, calcular la potencia de la muestra a examinar y comprobar la validez del ensayo empleando los métodos estadísticos habituales (ver 10. *Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos*).

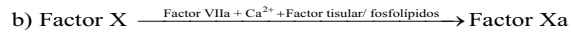
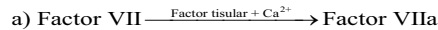
VALORACIÓN DEL FACTOR VII DE COAGULACIÓN SANGUÍNEA

El método para determinar la actividad de factor VII de coagulación es un ensayo cromogénico en el cual se determina su actividad biológica como complejo factor VIIa-factor tisular en la activación del factor X en presencia de iones calcio y fosfolípidos. La potencia de la preparación de factor VII se estima comparando la cantidad necesaria para alcanzar una cierta velocidad de formación del factor Xa en una mezcla que contiene las sustancias que intervienen en la activación del factor X y la cantidad de Patrón Internacional o de una preparación de referencia, calibrada en Unidades Internacionales, requerida para producir la misma velocidad de formación de factor Xa. La Unidad Internacional se define como la actividad del factor VII de una cantidad establecida de Patrón Internacional, que consiste en un concentrado de factor VII huma-

no liofilizado. La equivalencia en Unidades Internacionales del Patrón Internacional la establece la Organización Mundial de la Salud.

El método cromogénico consta de dos pasos consecutivos: la activación del factor VII a factor VIIa, por medio del factor tisular y calcio, la activación de factor X a factor Xa por la presencia de factor VIIa, calcio fosfolípidos y factor tisular y el

Etapas 1:



Etapas 2:



En ambas etapas se utilizan reactivos que pueden ser obtenidos comercialmente. La composición de cada reactivo puede estar sujeta a alguna variación, sus características esenciales se describen en las siguientes especificaciones: los reactivos contienen proteínas purificadas de origen humano o bovino. Éstas incluyen factor X, factor tisular y fosfolípidos como activador del factor VII. Estas proteínas están parcialmente purificadas y no deben contener impurezas que interfieran en la activación del factor VII o del factor X. El factor X está presente en cantidades cuya concentración final durante el primer paso del ensayo esta comprendida entre 10 y 350 nmol por litro (preferentemente de 14 a 70 nmol por litro). Tromboplastina de origen natural (cerebro bovino o de conejo) o de origen sintético, se puede usar como fuente de factor tisular y fosfolípidos. La Tromboplastina adecuada para uso en la determinación del tiempo de protrombina se diluye entre 1 en 5 y 1 en 50 en una solución reguladora tal que la concentración final de Ca^{2+} este comprendida entre 15 y 25 nmol por litro. La formación final de factor Xa es realizada en una solución que contiene albúmina humana o bovina con una concentración tal que no se produzca pérdida por adsorción y que está apropiadamente regulada a pH entre 7,3 y 8,0. En la mezcla de incubación final, el factor VII debe ser el único componente limitante de la velocidad y cada componente del reactivo no debe tener capacidad de generar el factor Xa por sí mismo.

La segunda etapa comprende la cuantificación del factor Xa por medio de un sustrato cromogénico específico para el factor Xa. Este sustrato generalmente consiste de un péptido corto que tiene entre 3 y 5 aminoácidos, unido a un grupo cromóforo. Cuando se cliva este grupo del péptido sustrato, se produce un cambio de absorbancia a una longitud de onda apropiada que permite su cuantificación

segundo paso es el clivaje enzimático de un sustrato cromogénico específico para el factor Xa, para dar un cromóforo que se puede cuantificar espectrofotométricamente. En las condiciones adecuadas, existe una relación lineal entre la velocidad de formación del factor Xa y la concentración del factor VII. El ensayo se resume en el siguiente esquema:

espectrofotométrica. El sustrato se disuelve normalmente en agua y se utiliza a una concentración final entre 0,2 y 2 mmol por litro. El sustrato puede contener también inhibidores para detener la formación adicional de factor Xa (adición de edetato).

Preparación estándar - Reconstituir el contenido completo de una ampolla de la preparación con el agregado de una cantidad apropiada de agua; emplear las preparaciones reconstituidas dentro de la hora de su preparación. Realizar una dilución con suficiente prediluyente para obtener una solución que contenga entre 0,5 UI y 2,0 UI de factor VII por mililitro. Preparar las diluciones posteriores empleando una solución reguladora isotónica y no quelante que contenga 1 % de albúmina humana o bovina, regulada entre pH 7,3 y 8,0. Preparar preferentemente por duplicado y en forma independiente por lo menos tres diluciones en progresión geométrica o aritmética. Las diluciones deben prepararse de forma tal que la concentración final de factor VII esté por debajo de 0,005 UI por ml.

Preparación muestra - Reconstituir el contenido completo de la ampolla según se indica en el rótulo. Emplear las preparaciones reconstituidas dentro de la hora de su preparación. Hacer una dilución con suficiente prediluyente para obtener una solución que contenga entre 0,5 UI y 2,0 UI de factor VII por mililitro. Preparar las diluciones posteriores empleando una solución reguladora isotónica y no quelante que contenga 1 % de albúmina humana o bovina, regulada entre pH 7,3 y 8,0. Preparar preferentemente por duplicado y en forma independiente por lo menos tres diluciones en progresión geométrica o aritmética. Las diluciones deben prepararse de forma tal que la concentración final de factor VII esté por debajo de 0,005 UI/ml.

Procedimiento - Preparar una solución control que incluya todos los componentes exceptuando el factor VII (blanco).

[NOTA: preparar todas las diluciones en tubos de plástico y usarlas dentro de la hora de su preparación; se deben realizar al menos dos reacciones de cada dilución.]

Etapas 1. Mezclar las diluciones de la preparación de referencia del factor VII y de la preparación a examinar con un volumen apropiado del reactivo de factor de coagulación precalentado o con una combinación de sus constituyentes separados, e incubar la mezcla en tubos de plástico o en pocillos de microplaca a 37 °C. Las concentraciones de los diversos componentes durante la formación del factor Xa deben ser las especificadas en la descripción de los reactivos. Dejar que la activación del factor X proceda durante un tiempo apropiado, terminando la reacción antes de que la concentración del factor Xa alcance su nivel máximo, con el fin de obtener una relación lineal satisfactoria entre dosis y respuesta. Los tiempos adecuados de activación están normalmente entre 2 y 5 minutos, pero se admiten desviaciones si con ellas se obtiene mejor linealidad de la relación dosis-respuesta.

Etapas 2. Determinar el factor Xa por adición de un reactivo precalentado que contenga el sustrato cromogénico. Cuantificar la velocidad de liberación del sustrato, que debe ser proporcional a la concentración del factor Xa formado, midiendo en un espectrofotómetro el cambio de absorbancia a una longitud de onda apropiada por monitoreo continuo de la absorbancia. Determinar la velocidad de cambio de absorbancia a 405 nm continuamente por un período de tiempo y obtener la velocidad media del cambio de absorbancia ($\Delta A/\text{min}$) o detener la reacción de hidrólisis por disminución del pH a 3, con un reactivo tal como ácido acético (500 g por litro) o solución de citrato 1 M tras un intervalo de tiempo apropiado (A). Ajustar el tiempo de hidrólisis de modo tal de alcanzar un desarrollo lineal del cromóforo con el tiempo. En general los tiempos de hidrólisis suelen estar entre 3 y 15 minutos, pero

se admiten variaciones si así se obtiene una mejora en la linealidad de la relación dosis-respuesta.

Comprobar la validez del ensayo y calcular la potencia de la preparación a examinar empleando los métodos estadísticos habituales (ver 10. *Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos*).

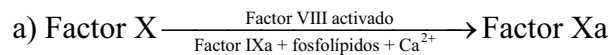
VALORACIÓN DEL FACTOR VIII DE COAGULACIÓN SANGUÍNEA

El método para determinar la actividad de factor VIII es un ensayo cromogénico en el cual se determina su actividad biológica como cofactor en la activación del factor X por el factor IX activado (factor IXa) en presencia de iones calcio y fosfolípidos. La potencia de la preparación del factor VIII se estima comparando la cantidad necesaria para alcanzar una cierta velocidad de formación del factor Xa en una mezcla de reacción que contiene las sustancias que intervienen en la activación del factor X y la cantidad de un Patrón Internacional o de una preparación de referencia calibrada en Unidades Internacionales, requerida para producir el mismo efecto.

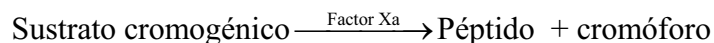
La Unidad Internacional es la actividad del factor VIII de una cantidad establecida de Patrón Internacional, que consiste en concentrado de factor VIII humano liofilizado. La equivalencia en Unidades Internacionales del Patrón Internacional la establece la Organización Mundial de la Salud.

El método cromogénico consta de dos pasos consecutivos: la activación del factor X a factor Xa que depende del factor VIII y el clivaje enzimático de un sustrato cromogénico específico para el factor Xa, produciendo un cromóforo que se puede cuantificar espectrofotométricamente. En las condiciones adecuadas, existe una relación lineal entre la velocidad de formación del factor Xa y la concentración del factor VIII. El resumen del ensayo se indica en el siguiente esquema:

Etapas 1:



Etapas 2:



En ambas etapas se utilizan reactivos que pueden ser obtenidos comercialmente. La composición de cada reactivo puede estar sujeta a alguna variación, sus características esenciales se describen en la siguiente especificación: pueden permitirse cier-

tas desviaciones de esta descripción únicamente si se ha comprobado, usando el Patrón Internacional de factor VIII, que los resultados obtenidos no difieren significativamente.

[NOTA: es importante demostrar por la validación, la adecuabilidad del kit usado, chequeando el tiempo de generación de factor X para determinar el tiempo necesario para alcanzar el 50 % de la generación máxima de factor X.]

Reactivo factor de coagulación - Contiene proteínas purificadas de origen humano o bovino. Estas incluyen el factor X, factor IXa, y un activador del factor VIII usualmente trombina. Estas proteínas parcialmente purificadas, al menos hasta el 50 %, no contienen impurezas que interfieren con la activación del factor VIII o del factor X. La trombina puede estar presente en su forma precursora protrombina, siempre que su activación en el reactivo sea suficientemente rápida para provocar la activación completa y prácticamente instantánea del factor VIII durante el ensayo. Los fosfolípidos se pueden obtener de un sustrato natural o pueden prepararse por síntesis, pero deben contener una proporción importante, de fosfatidilserina. Los componentes del reactivo completo suelen encontrarse separados en al menos dos reactivos distintos, carentes de la capacidad de formar el factor Xa por sí solos. Uno de los reactivos contiene iones calcio. Después de la reconstitución, éstos se pueden combinar, siempre que se pruebe que no se generan cantidades significativas de factor Xa en ausencia del factor VIII. En la mezcla de incubación final, el factor VIII debe ser el único componente limitante de la velocidad.

El segundo paso comprende la cuantificación del factor Xa formado, empleando un sustrato cromogénico específico para el factor Xa. Generalmente consiste en un péptido corto derivatizado, de entre 3 y 5 aminoácidos, unido a un grupo cromóforo. Cuando se cliva este grupo a partir del péptido sustrato, se produce un cambio de absorbancia a una longitud de onda apropiada que permite su cuantificación espectrofotométrica. El sustrato debe contener también inhibidores apropiados para detener la formación adicional del factor Xa (por ejemplo agentes quelantes) y suprimir la actividad de la trombina.

Prediluyente - Consiste de plasma de un paciente con hemofilia A grave, o de un reactivo preparado artificialmente que contenga suficiente factor von Willebrand y que de resultados que no difieren significativamente de los obtenidos empleando plasma hemofílico en las preparaciones patrón y problema. Los materiales prediluidos deben ser estables durante un tiempo superior al requerido para el ensayo.

Preparación estándar - Reconstituir el contenido de la ampolla mediante el agregado de una cantidad apropiada de agua; usar inmediatamente.

Realizar una dilución con suficiente cantidad de *Prediluyente* para obtener una solución que contenga entre 0,5 y 2,0 Unidades Internacionales por mililitro. Preparar las siguientes diluciones de la preparación estándar empleando una solución isotónica regulada, no quelante que contenga 1 % de albúmina humana o bovina, por ejemplo, tris(hidroximetil)aminometano o imidazol. Preparar preferentemente por duplicado y en forma independiente por lo menos tres diluciones en progresión geométrica o aritmética. La concentración final del factor VIII deberá ser inferior a 0,01 UI por ml durante el paso de formación del factor Xa.

Preparación muestra - Reconstituir el contenido de la ampolla según se indica en el rótulo y emplear inmediatamente. Realizar una dilución con suficiente cantidad de *Prediluyente* para obtener una solución que contenga entre 0,5 y 2,0 UI por mililitro. Preparar las siguientes diluciones empleando una solución isotónica regulada, no quelante que contenga 1 % de albúmina humana o bovina, por ejemplo, tris(hidroximetil)aminometano o imidazol. Preparar preferentemente por duplicado y en forma independiente por lo menos tres diluciones en progresión geométrica o aritmética. La concentración final del factor VIII en la mezcla reacción deberá ser inferior a 0,01 UI por ml durante el paso de formación del factor Xa.

Procedimiento - Preparar una solución blanco que incluya todos los componentes excepto el factor VIII. [NOTA: preparar todas las diluciones en tubos de plástico y emplearlas inmediatamente. Se debe realizar al menos dos replicas de cada dilución.]

Etapas 1. Mezclar las diluciones precalentadas de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra* con un volumen apropiado de *Reactivo factor de coagulación*, también precalentado, o con la combinación de sus constituyentes separados. Incubar en tubos de plástico o en pocillos de microplaca a 37 °C. Las concentraciones de los distintos componentes durante la formación del factor Xa deben ser las especificadas anteriormente en la descripción de los reactivos. Permitir que la activación del factor X proceda durante un tiempo apropiado, terminando la reacción (Etapa 2) cuando la concentración del factor Xa alcance aproximadamente el 50 % del nivel máximo. Los tiempos de activación están normalmente entre 2 y 5 min.

Etapas 2. Determinar el factor Xa por agregado del sustrato cromogénico precalentado. Cuantificar la proporción de sustrato escindido, que debe ser lineal con respecto a la concentración del factor Xa formado, midiendo en un espectrofotómetro el cambio de absorbancia a una longitud de onda apropiada. Puede registrarse la absorbancia de

modo continuo, por medio de la lectura de la velocidad de cambio de absorbancia a 405 nm continuamente por un período de tiempo y obtener la velocidad media del cambio de absorbancia ($\Delta A/\text{min}$) o también es posible detener la reacción de hidrólisis tras un intervalo apropiado bajando el pH por adición de un reactivo apropiado, como ácido acético al 50 % v/v o una solución de citrato (1 mol por litro), a pH 3. Ajustar el tiempo de hidrólisis para conseguir un incremento lineal del cromóforo a lo largo del tiempo. Los tiempos adecuados de hidrólisis suelen estar entre 3 y 15 min, pero se admiten variaciones si con ellas se obtiene una mejor linealidad en la reacción dosis-respuesta.

Comprobar la validez del ensayo y calcular la potencia de la preparación a examinar empleando los métodos estadísticos usuales (ver 10. *Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos*).

VALORACIÓN DEL FACTOR IX DE COAGULACIÓN SANGUÍNEA

El método para determinar la actividad de factor IX es un ensayo de coagulación basado en la capacidad del factor IX de reducir el tiempo de coagulación de un plasma carente de factor IX. La reacción es acelerada por el agregado de un reactivo que contenga fosfolípidos y un activador de contacto como por ejemplo caolín, sílica o ácido ellágico. La potencia es determinada por comparación de la curva dosis-respuesta de la preparación muestra, con la de una preparación de referencia calibrada en Unidades Internacionales.

La Unidad Internacional es la actividad de una cantidad establecida de Patrón Internacional, que consiste en un concentrado liofilizado de factor IX de coagulación. La equivalencia en Unidades Internacionales del Patrón Internacional la establece la Organización Mundial de la Salud.

Reactivos

Plasma carente de factor IX

Reactivo que contenga fosfolípidos (Cefalina) y un Activador de contacto (Caolín liviano (Sílica o Ácido ellágico)).

Cloruro de calcio

Solución Reguladora Imidazol pH 7,3

Albumina bovina o humana

Preparación estándar - Reconstituir la preparación según las indicaciones de la preparación estándar. Cuando corresponda, determinar la actividad de heparina presente y neutralizarla mediante la adición de por ejemplo sulfato de protamina (10 μg de sulfato de protamina neutralizan 1 UI de heparina). Diluir la preparación estándar con plasma carente de factor IX para obtener una solución que contenga entre 0,5 y 2,0 UI por mililitro. A partir

de esta dilución preparar, preferentemente por duplicado y en forma independiente, al menos tres diluciones, en progresión geométrica utilizando solución reguladora adecuada (por ejemplo solución reguladora de imidazol a pH 7,3 conteniendo 10 g por litro de albumina bovina o humana). Preparar estas diluciones con precisión y utilizarlas inmediatamente.

Preparación muestra - Reconstituir la preparación en ensayo según se indica en el rótulo y utilizar inmediatamente. Cuando corresponda, determinar la actividad de heparina presente y neutralizarla mediante la adición de por ejemplo sulfato de protamina (10 μg de sulfato de protamina neutralizan 1 UI de heparina). Diluir la preparación en ensayo con plasma carente de factor IX para obtener una solución que contenga entre 0,5 y 2,0 UI por mililitro. Preparar diluciones en progresión geométrica de igual manera que la preparación estándar.

Procedimiento - Usar un aparato apropiado para medir tiempos de coagulación o realizar el ensayo colocando los tubos en baño de agua a 37 °C. Realizar la reacción por duplicado en el siguiente orden E1, E2, E3, M1, M2, M3 y con el otro juego de diluciones continuar en el siguiente orden M1, M2, M3, E1, E2 y E3. Colocar en cada tubo 0,1 ml plasma carente de factor IX y 0,1 ml de una de las diluciones de la *Preparación estándar* o de la *Preparación muestra*. Añadir a cada tubo 0,1 ml de un reactivo que contenga fosfolípidos y un activador de contacto apropiado para Tiempo de Tromboplastina Parcial Activado (TTPA) e incubar el tiempo recomendado a 37 °C. A cada tubo añadir 0,1 ml de una solución 3,7 g por litro de cloruro de calcio previamente calentado a 37 °C. Utilizando un cronómetro, medir el tiempo de coagulación, es decir, el intervalo entre el momento de agregado del cloruro de calcio y la primera indicación de formación de fibrina. [NOTA: se recomienda utilizar material plástico; los volúmenes se pueden modificar al igual que los tiempos de incubación; se pueden emplear reactivos comerciales siempre que se compruebe que los resultados son iguales.] Calcular la potencia empleando los métodos estadísticos habituales (ver 10. *Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos*).

VALORACIÓN DEL FACTOR X DE COAGULACIÓN SANGUÍNEA

El método para determinar la actividad de factor X de coagulación es un ensayo cromogénico en el cual se determina su actividad por su activación específica para formar factor Xa. La potencia de la preparación de factor X se estima comparando su actividad con un Patrón Internacional o una sustan-

cia de referencia calibrada en Unidades Internacionales por un método cromogénico.

La Unidad Internacional es la actividad de factor X de una cantidad establecida de patrón Internacional que consiste en un concentrado liofilizado de factor X humano. La equivalencia en Unidades Internacionales del Patrón Internacional la establece la Organización Mundial de la Salud. El método cromogénico de valoración consiste en dos pasos: la activación del factor X a factor Xa que depende de veneno de serpiente y el clivaje enzimático de un sustrato cromogénico específico para factor Xa, para dar un cromóforo que puede ser cuantificado espectrofotométricamente. En las condiciones apropiadas, existe una relación lineal entre la actividad del factor Xa y el clivaje del sustrato cromogénico.

Reactivos

Solución reguladora para diluciones - Solución de 3,7 g por litro de tris(hidroximetil)aminometano, 18,0 g por litro de cloruro de sodio, 2,1 g por litro de imidazol, 0,02 g por litro de bromuro de hexadimetrina y 1 g por litro de albúmina bovina o albúmina humana. Ajustar a pH 8,4, si fuera necesario, con ácido clorhídrico.

Veneno de víbora Russell específico para activar factor X - Se trata de una proteína derivada del veneno de víbora Russell's (*Vipera russelli*) que activa específicamente el factor X. Reconstituir y almacenar según se indica en el rótulo.

Sustrato cromogénico para factor Xa - Sustratos cromogénicos específicos para factor Xa tales como: *N- α -benziloxycarbonil-D-arginil-L-glicil-L-arginina-4-nitroanilida* diclorhidrato, *N-benzoil-L-isoleucil-L-glutamil-glicil-L-arginin-4-nitroanilida* clorhidrato, metanosulfonil-D-leucil-glicil-L-arginin-4-nitroanilida, metoxicarbonil-D-ciclohexilalanil-glicil-L-arginin-4-nitroanilida acetato. Reconstituir según se indica en el rótulo.

Preparación estándar - Diluir con *Solución reguladora para diluciones* para obtener una solución de 0,18 UI de factor X por mililitro. Preparar, preferentemente por duplicado y en forma independiente, al menos tres diluciones en progresión geométrica o aritmética empleando el mismo solvente.

Preparación muestra - Diluir con *Solución reguladora para diluciones* para obtener una solución de 0,18 UI de factor X por mililitro. Preparar, preferentemente por duplicado y en forma independiente, al menos tres diluciones en progresión geométrica o aritmética empleando el mismo solvente.

Procedimiento - Precalear todas las soluciones en un baño de agua a 37 °C inmediatamente antes de realizar el ensayo. Las siguientes condiciones de ensayo se utilizan para placas de

96 pocillos. Si el ensayo se lleva a cabo en tubos, se deben ajustar los volúmenes de manera que se mantengan las proporciones de la mezcla. Se deben realizar dos reacciones de cada dilución. En una placa de 96 pocillos mantenida a 37 °C, agregar por duplicado 12,5 μ l de cada dilución de la *Preparación muestra* o la *Preparación estándar* a cada uno de los pocillos. Mezclar volúmenes iguales de *Veneno de víbora Russell específico para activar factor X* y cloruro de calcio 0,1M, transferir 25 μ l a cada pocillo e incubar durante exactamente 90 segundos. A cada pocillo agregar 150 μ l de *Sustrato cromogénico para factor Xa* diluido 1 en 6 con *Solución reguladora para diluciones*. [NOTA: se admiten modificaciones de volúmenes de la reacción si con ellas se obtiene una mejor linealidad]. Determinar la velocidad de cambio de absorbancia (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) a 405 nm de forma continua durante 3 minutos y obtener el promedio de velocidad de cambio de absorbancia ($\Delta A/\text{min}$). Si no se puede medir en forma continua, leer la absorbancia a 405 nm a intervalos consecutivos adecuados, durante 40 segundos, o también es posible detener la reacción de hidrólisis tras un intervalo apropiado bajando el pH por adición de un reactivo conveniente, como ácido acético al 50 % v/v o una solución de citrato 1 M. Ajustar el tiempo de hidrólisis para conseguir un incremento lineal del cromóforo a lo largo del tiempo. Con los valores $\Delta A/\text{min}$ o A de cada dilución tanto de muestra como el estándar. Comprobar la validez del ensayo y calcular la potencia de la preparación a examinar empleando los métodos estadísticos habituales (ver 10. *Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos*).

VALORACIÓN DEL FACTOR DE VON WILLEBRAND

La potencia del factor de von Willebrand humano se determina comparando su actividad en la unión a colágeno o como cofactor ristocetina con la misma actividad de una preparación de referencia calibrada en Unidades Internacionales contra el estándar internacional.

La Unidad Internacional se define como la actividad de una cantidad establecida de Patrón Internacional para factor de von Willebrand en concentrado de factor VIII de coagulación humana. La equivalencia en Unidades Internacionales del Patrón Internacional la establece la Organización Mundial de la Salud.

Ensayo de unión a colágeno

La unión a colágeno se determina por un Enzoinmunoensayo sobre placas cubiertas con colágeno. El método se basa en la unión específica del

factor de von Willebrand a las fibras de colágeno y la posterior unión a un anticuerpo policlonal anti-factor de von Willebrand conjugado a una enzima, la cual, al agregar un sustrato cromogénico, genera un producto que puede ser cuantificado espectrofotométricamente. Bajo condiciones apropiadas existe una relación lineal entre el factor de von Willebrand unido a colágeno y la absorbancia.

Reactivos

Colágeno - Emplear fibras de colágeno humano o equino nativas tipo I o III. Pueden emplearse soluciones de colágeno.

Diluyente de Colágeno - Disolver 50 g de glucosa en agua, ajustar a pH entre 2,7 y 2,9 con ácido clorhídrico 1 M y diluir a 1 litro con agua.

Solución reguladora salina fosfatada (PBS) - Disolver 8 g de cloruro de sodio, 1,05 g de fosfato dibásico de sodio, 0,2 g de fosfato monobásico de sodio y 0,2 g de cloruro de potasio en agua. Ajustar a pH 7,2 con hidróxido de sodio 1 M o ácido clorhídrico 1 M y diluir a 1 litro con agua.

Solución reguladora de lavado - *Solución reguladora salina fosfatada* conteniendo 1 g por litro de polisorbato 20.

Reactivo bloqueante - *Solución reguladora salina fosfatada* conteniendo 1 g por litro de polisorbato 20 y 10 g por litro de albúmina sérica bovina.

Solución reguladora de dilución - *Solución reguladora salina fosfatada* conteniendo 1 g por litro de polisorbato 20 y 50 g por litro de albúmina sérica bovina.

Conjugado - Suero de conejo anti-factor de von Willebrand humano conjugado con peroxidasa. Emplear de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

Solución sustrato - Inmediatamente antes de emplear disolver una tableta de dicloruro de o-fenilendiamina y una tableta de peróxido de hidrógeno en 20 ml de agua o un volumen adecuado de peróxido de hidrógeno. [NOTA: proteger de la luz.]

Placas de microtitulación - Placas de poliestireno de fondo plano con superficies optimizadas para enzimo-inmunoensayo y alta capacidad de unión a proteínas.

Preparación estándar - Reconstituir la preparación de referencia según se indica en el rótulo. Diluir con *Solución reguladora de dilución* para obtener una solución de aproximadamente 1 UI de factor de von Willebrand. Preparar dos series independientes de no menos de tres diluciones cada una con *Solución reguladora de dilución*.

Preparación muestra - Reconstituir la preparación en ensayo según se indica en el rótulo. Diluir con *Solución reguladora de dilución* para obtener

una solución de aproximadamente 1 UI de factor de von Willebrand. Preparar dos series independientes de no menos de tres diluciones cada una con *Solución reguladora de dilución*.

Procedimiento - Llevar la solución de *Colágeno* a temperatura ambiente. Diluir con *Diluyente de colágeno* para obtener una solución entre 30 y 75 µg por ml de colágeno, mezclar para obtener una suspensión uniforme de fibras de colágeno. Colocar 100 µl en cada orificio de la placa de titulación. Cubrir la placa con un film plástico e incubar a 37 °C durante toda la noche. Vaciar los orificios de la placa cubierta con colágeno invirtiéndola y dejar secar sobre papel absorbente. Agregar 250 µl de *Solución de lavado*. Vaciar los orificios de la placa invirtiéndola y dejar secar sobre papel absorbente. Repetir la operación tres veces. Agregar 250 µl de *Reactivo bloqueante* a cada orificio, cubrir la placa con un film plástico e incubar a 37 °C por una hora. Vaciar los orificios de la placa invirtiéndola y dejar secar sobre papel absorbente. Agregar 250 µl de *Solución de lavado*. Vaciar los orificios de la placa invirtiéndola y dejar secar sobre papel absorbente. Repetir la operación tres veces. Agregar 100 µl de *Preparación muestra* o de *Preparación estándar* en los orificios. Agregar 100 µl de *Solución reguladora de dilución* a una serie de orificios que actúan como control negativo. Cubrir la placa con un film plástico e incubar a 37 °C por dos horas. Vaciar los orificios de la placa invirtiéndola y dejando secar sobre papel absorbente. Agregar 250 µl de *Solución de lavado*. Vaciar los orificios de la placa invirtiéndola y dejar secar sobre papel absorbente. Repetir la operación tres veces. Preparar una dilución apropiada del conjugado con *Solución reguladora salina fosfatada* conteniendo albúmina sérica bovina 5 g por litro y agregar 100 µl a cada orificio. Cubrir la placa con un film plástico e incubar a 37 °C durante dos horas. Vaciar los orificios de la placa invirtiéndola y dejar secar sobre papel absorbente. Agregar 250 µl de *Solución de lavado*. Vaciar los orificios de la placa invirtiéndola y dejar secar sobre papel absorbente. Repetir la operación tres veces. Agregar 100 µl de *Solución sustrato* a cada orificio e incubar a temperatura ambiente durante 20 minutos en la oscuridad. Agregar 100 µl de ácido clorhídrico a cada orificio. Medir las absorbancias a 492 nm. Emplear los valores de absorbancia para estimar la potencia de la preparación con los métodos estadísticos habituales. El ensayo solo es válido si los valores de absorbancia para los controles negativos son mayores que 0,05.

Actividad de cofactor ristocetina

Preparar diluciones apropiadas de la preparación en ensayo y de la preparación de referencia emple-

ando como diluyente una solución de 9 g por litro de cloruro de sodio y albúmina humana 10 a 50 g por litro. Añadir a cada dilución cantidades adecuadas de un reactivo von Willebrand conteniendo plaquetas humanas estabilizadas y ristocetina A. Mezclar sobre una placa de vidrio con movimientos circulares durante 1 minuto. Dejar reposar durante 1 minuto y observar sobre fondo oscuro con iluminación lateral. La última dilución que presenta aglutinación claramente visible indica el título de cofactor de ristocetina en la muestra. Emplear el diluyente como control negativo.

ACTIVIDAD ANTICOMPLEMENTARIA

Llevar a cabo la determinación de la actividad anticomplemento (AAC) de la inmunoglobulina por incubación de una determinada cantidad de sustancia a examinar (10 mg de inmunoglobulina) con una determinada cantidad de complemento de cobayo (20 CH₅₀), seguida de la titulación del complemento residual. Expresar la actividad anticomplemento como el porcentaje de complemento consumido respecto al complemento control considerado como 100 %. La unidad hemolítica de actividad del complemento (CH₅₀) es la cantidad de complemento que, en las condiciones de la reacción, provoca la lisis de $2,5 \times 10^8$ eritrocitos sobre un total de 5×10^8 eritrocitos sensibilizados de forma óptima.

Reactivos

Solución concentrada de magnesio y calcio - Disolver 1,103 g de cloruro de calcio y 5,083 g de cloruro de magnesio en agua y diluir hasta 25 ml con el mismo solvente.

Solución reguladora concentrada de barbital - Disolver 207,5 g de cloruro de sodio y 25,48 g de barbital sódico en 4 litros de agua y ajustar a pH 7,3 con ácido clorhídrico 1 M. Agregar 12,5 ml de *Solución concentrada de magnesio y calcio* y diluir hasta 5 litros con agua. Filtrar a través de una membrana filtrante de 0,22 µm y conservar a 4 °C en envases de vidrio.

Solución de gelatina - Disolver 12,5 g de gelatina en aproximadamente 800 ml de agua y calentar a ebullición en un baño de agua. Enfriar a 20 °C y completar hasta 10 litros con agua. Filtrar a través de una membrana filtrante de 0,22 µm y conservar a 4 °C. [NOTA: emplear únicamente soluciones lípidas.]

Solución citratada - Disolver 8,0 g de citrato de sodio, 4,2 g de cloruro de sodio y 20,5 g de glucosa en 750 ml de agua. Ajustar a pH 6,1 con una solución de ácido cítrico 100 g por litro y diluir hasta 1 litro con agua.

Solución reguladora gelatina-barbital - Agregar 4 volúmenes de *Solución de gelatina* a 1 volumen de *Solución reguladora concentrada de barbital* y mezclar. Ajustar a pH 7,3, si fuera necesario, con ácido clorhídrico 1 M o hidróxido de sodio 1 M y mantener a 4 °C. [NOTA: preparar en el día de su uso.]

Sangre de carnero estabilizada - Recolectar 1 volumen de sangre de carnero sobre 1 volumen de *Solución citratada* y mezclar. Conservar la sangre estabilizada a 4 °C durante un mínimo de 7 días y un máximo de 28 días. [NOTA: la sangre de carnero o los eritrocitos de carnero estabilizados se pueden obtener comercialmente.]

Hemolisina - Antisuero frente a los eritrocitos de carnero, preparado en conejo [NOTA: dichos antisueros se pueden obtener comercialmente.]

Complemento de cobayo - Mezclar los sueros obtenidos a partir de la sangre de al menos diez cobayos. Separar el suero de la sangre coagulada por centrifugación a 4 °C aproximadamente. Conservar el suero en pequeñas cantidades a una temperatura inferior a -70 °C.

Método

Preparación de la suspensión patrón de eritrocitos de carnero al 5 %

Separar los eritrocitos de carnero por centrifugación de un volumen adecuado de sangre de carnero estabilizada. Lavar las células tres veces como mínimo con *Solución reguladora gelatina-barbital* y preparar una suspensión al 5 % v/v en *Solución reguladora gelatina-barbital*. Determinar la concentración celular según se indica a continuación. Agregar 0,2 ml de la suspensión a 2,8 ml de agua y centrifugar el lisado durante 5 minutos a 1.000 g. La concentración celular es adecuada si la absorbancia del líquido sobrenadante, determinada a 541 nm, es de $0,62 \pm 0,01$. Corregir la concentración celular por adición de un volumen de *Solución reguladora gelatina-barbital* hasta un V_f , calculado por la fórmula siguiente:

$$AV_o/0,62$$

en la cual V_o es el volumen inicial de la suspensión original y A es la absorbancia de la suspensión original a 541 nm. La suspensión ajustada contiene aproximadamente 10^9 células por ml.

Titulación de la hemolisina

Preparar las diluciones de hemolisina según el siguiente esquema:

<i>na requerida</i>	<i>Solución reguladora barbitol - gelatina</i>		<i>Hemolisina</i>
	Volumen (ml)	Dilución (1:....)	Volumen (ml)
7,5	0,65	no diluido	0,1
10	0,90	no diluido	0,1
75	1,80	7,5	0,2
100	1,80	10	0,2
150	1,00	75	1,0
200	1,00	100	1,0
300	1,00	150	1,0
400	1,00	200	1,0
600	1,00	300	1,0
800	1,00	400	1,0
1.200	1,00	600	1,0
1.600	1,00	800	1,0
2.400	1,00	1.200	1,0
3.200*	1,00	1.600	1,0
4.800*	1,00	2.400	1,0

* Descartar 1,0 ml de la mezcla.

Agregar 1,0 ml de *Suspensión patrón de eritrocitos de carnero al 5 %* a cada tubo de la serie de *Diluciones de hemolisina*, comenzando con la dilución 1:75 y mezclar. Incubar a 37 °C durante 30 minutos.

Transferir 0,2 ml de cada mezcla de *Dilución de hemolisina* a tubos nuevos y agregar 1,10 ml de *Solución reguladora gelatina-barbitol* y 0,2 ml de una dilución de *Complemento de cobayo* (por ejemplo 1:150). Realizar estas operaciones por duplicado.

Como control de células sin hemólisis preparar tres tubos con 1,4 ml de *Solución reguladora gelatina-barbitol* y 0,1 ml de *Suspensión de eritrocitos de carnero al 5 %*.

Como control de células hemolisadas preparar tres tubos con 1,4 ml de agua y 0,1 ml de *Suspensión de eritrocitos de carnero al 5 %*.

Incubar todos estos tubos a 37 °C durante 60 minutos y centrifugar a 1.000 g durante 5 minutos. Medir la absorbancia de cada líquido sobrenadante a 541 nm y calcular el grado de hemólisis de cada tubo por la fórmula siguiente:

$$(A_a - A_l) / (A_b - A_l)$$

en la cual A_a es la absorbancia de los tubos que contienen las *Diluciones de hemolisina*, A_b es la absorbancia media de los tres tubos con hemólisis total y A_l es la absorbancia media de los tres tubos sin hemólisis.

Graficar el grado de hemólisis obtenido, en porcentaje, en función de la inversa de la *Dilución de*

hemolisina. Determinar la dilución óptima de hemolisina a partir del gráfico. Elegir una dilución en la que un aumento de la cantidad de hemolisina ya no produzca una variación sensible del grado de hemólisis. Esta dilución se considera que contiene 1 unidad mínima de hemólisis (1 UMH) en 1,0 ml. La dilución óptima hemolítica de hemolisina para la preparación de eritrocitos de carnero sensibilizados contiene 2 UMH por ml.

La titulación de hemolisina no es válida si la hemólisis máxima no esta comprendida entre el 50 y el 70 %. Si el máximo grado de hemólisis no está en este intervalo, repetir la titulación utilizando una disolución de complemento más o menos diluida según corresponda.

Preparación de eritrocitos de carnero sensibilizados (sistema hemolítico)

Preparar una cantidad adecuada de hemolisina diluida conteniendo 2 UHM por ml y un volumen igual de *Suspensión patrón de eritrocitos de carnero al 5 %*. Añadir la dilución de hemolisina a la suspensión patrón de células y mezclar. Incubar a 37 °C durante 15 minutos; conservar entre 2 y 8 °C y emplear dentro de las 6 horas de preparada.

Titulación del complemento

Preparar una dilución apropiada de complemento (por ejemplo 1:250) con *Solución reguladora gelatina-barbitol* y realizar la titulación por duplicado según se indica en la siguiente tabla:

<i>Tubo</i> <i>N°</i>	<i>Volumen de complemento diluido (ml)</i> <i>(por ej. 1:250)</i>	<i>Volumen de Solución reguladora de gelatina-barbitol (ml)</i>
1	0,1	1,2

2	0,2	1,1
3	0,3	1,0
4	0,4	0,9
5	0,5	0,8
6	0,6	0,7
7	0,7	0,6
8	0,8	0,5
9	0,9	0,4
10	1,0	0,3
11	1,1	0,2
12	1,2	0,1
Tres tubos Control de células con 0 % de hemólisis	-	1,3
Tres tubos al 100 % de hemólisis	-	1,3 ml de agua

Agregar 0,2 ml de *Eritrocitos de carnero sensibilizados* a cada tubo, mezclar e incubar a 37 °C durante 60 minutos. Enfriar los tubos en un baño de hielo y centrifugar a 1.000 g durante 5 minutos. Medir la absorbancia del sobrenadante a 541 nm y calcular el grado de hemólisis (Y) por la fórmula siguiente:

$$(A_c - A_l) / (A_b - A_l)$$

en la cual A_c es la absorbancia de los *Tubos 1 a 12*, A_b es la absorbancia media de los tres tubos con hemólisis al 100 % y A_l es la absorbancia media de los tres tubos sin hemólisis.

Representar una curva sobre papel doble logarítmico con los valores de $Y/(1-Y)$ en función al volumen de complemento diluido en mililitros. Hallar la ecuación de la recta que mejor ajuste al conjunto de puntos y determinar el valor en ordenadas que corresponda al 50 % de dosis hemolítica del complemento donde $Y/(1-Y) = 1,0$. Calcular la acti-

vidad en unidades hemolíticas (CH_{50}/ml) de acuerdo con la fórmula siguiente:

$$C_d/5C_a$$

en la cual C_d es el valor inverso de la dilución del complemento, C_a es el volumen en mililitros del complemento diluido que produce un 50 % de hemólisis y 5 el factor de escala para tener en cuenta el número de eritrocitos.

El ensayo no será válido a menos que el gráfico sea lineal entre el 15 % y el 85 % de hemólisis y que el valor de la pendiente esté comprendido entre 0,15 y 0,40 (preferentemente entre 0,18 y 0,30).

Ensayo de la actividad anticomplemento

Preparar una dilución del *Complemento de cobayo* ya titulado con *Solución reguladora gelatina-barbital* para obtener 100 CH_{50}/ml . Agregar la inmunoglobulina a examinar, ajustada a pH 7 si fuera necesario. Preparar las mezclas siguientes de incubación para una inmunoglobulina que contenga 50 mg por ml:

	<i>Inmunoglobulina a ser examinada (ml)</i>	<i>Control de complemento (por duplicado) (ml)</i>
Inmunoglobulina (50 mg por ml)	0,2	—
Solución reguladora gelatina barbital	0,6	0,8
Complemento	0,2	0,2

Realizar en paralelo los ensayos sobre la inmunoglobulina a examinar y sobre controles negativos y positivos de AAC, preparados con inmunoglobulina humana según las indicaciones del prospecto que acompaña a la preparación de referencia. Si la sustancia a examinar contiene más o menos de 50 mg por ml de inmunoglobulina, ajustar adecuadamente los volúmenes de la preparación y de la *Solución reguladora gelatina-barbital*, por ejemplo, utilizar 0,33 ml de una

preparación que contenga 30 mg por ml de inmunoglobulina y 0,47 ml de *Solución reguladora gelatina-barbital* para conseguir un volumen total de 0,8 ml. Tapar los tubos e incubar a 37 °C durante 60 minutos. Agregar 0,2 ml de cada mezcla de incubación a 9,8 ml de *Solución reguladora gelatina-barbital* para diluir el complemento. Para determinar la actividad del complemento residual, realizar la *Titulación del complemento* en cada tubo según se ha descrito anteriormente.

Calcular la actividad anticomplementaria (AAC) de la sustancia a examinar empleando como referencia el complemento control considerado como 100 %, a partir de la fórmula siguiente:

$$100(a-b)/a$$

en la cual a es la media de la actividad del complemento (CH_{50}/ml) del complemento control y b es la actividad del complemento (CH_{50}/ml) de la sustancia a examinar.

El ensayo no es válido a menos que; las actividades anticomplementarias encontradas para los controles AAC negativos y los controles AAC positivos se sitúen en los límites indicados en el prospecto que acompaña la preparación de referencia; la actividad del complemento control (a) esté comprendida entre 80 y 120 CH_{50} por mililitro.

ACTIVADOR DE PRECALICREÍNA

El activador de precalicreína (PCA) transforma la precalicreína en calicreína y ésta puede valorarse por su capacidad de escindir un cromóforo a partir de un sustrato peptídico sintético. El grado de clivaje se puede medir por espectrofotometría y la concentración de PCA se calcula por comparación con una preparación patrón calibrada en Unidades Internacionales. La Unidad Internacional corresponde a la actividad de una determinada cantidad del Patrón Internacional, que está constituido por activador de la precalicreína liofilizado. La equivalencia en Unidades Internacionales de la muestra patrón internacional la establece la Organización Mundial de la Salud.

Reactivos

Solución reguladora A - Disolver 6,055 g de tris(hidroximetil)aminometano, 1,17 g de cloruro de sodio, 50 mg de bromuro de hexadimetrina y 100 mg de azida de sodio en agua. Ajustar a pH 8,0 con ácido clorhídrico 2 M y diluir hasta 1 litro con agua.

Solución reguladora B - Disolver 6,055 g de tris(hidroximetil)aminometano y 8,77 g de cloruro de sodio en agua. Ajustar a pH 8,0 con ácido clorhídrico 2 M y diluir hasta 1 litro con agua.

Preparación del sustrato de la precalicreína - [NOTA: para evitar que se active la coagulación, la sangre o el plasma utilizados para la preparación de la precalicreína deben ponerse en contacto sólo con material plástico o de vidrio tratado con silicona.] Añadir 9 volúmenes de sangre humana sobre un volumen de una solución de anticoagulante (ACD, CPD o una solución de citrato de sodio 38 g por litro) a la que se le ha agregado 1 mg por mililitro de bromuro de hexadimetrina.

Centrifugar la mezcla a 3.600 g durante 5 minutos. Separar el plasma y centrifugar de nuevo a 6.000 g durante 20 minutos para que sedimenten las plaquetas. Separar el plasma pobre en plaquetas y dializar frente a 10 volúmenes de *Solución reguladora A* durante 20 horas. Después de la diálisis, aplicar el plasma sobre una columna de cromatografía que contiene agarosa-DEAE para cromatografía de intercambio iónico, que haya sido equilibrada con *Solución reguladora A* y cuyo volumen sea igual a dos veces el volumen del plasma. Eluir con *Solución reguladora A* a un flujo de 20 $ml/cm^2/h$. Recolectar el eluido en fracciones y medir la absorbancia a 280 nm. Reunir las fracciones que contengan el primer pico de proteínas para obtener aproximadamente un volumen de 1,2 veces el volumen del plasma pobre en plaquetas.

Para verificar que el sustrato está exento de actividad de calicreína, mezclar 1 volumen del mismo con 20 volúmenes de solución del sustrato cromogénico que será utilizado durante el ensayo precalentada e incubar a 37 °C durante 2 minutos. El sustrato es adecuado si la absorbancia no aumenta más de 0,001 por minuto. Agregar a la solución de sustrato 7 g por litro de cloruro de sodio y filtrar utilizando un filtro de membrana de 0,45 μm . Congelar el filtrado en alícuotas y conservar a -25 °C; el sustrato también puede liofilizarse para su conservación. [NOTA: efectuar todas las operaciones, desde el inicio de la cromatografía hasta la congelación en partes alícuotas, durante una misma jornada de trabajo.]

Valoración

Es preferible realizar la valoración utilizando un analizador enzimático automatizado a 37 °C, con volúmenes, concentraciones de sustrato y tiempos de incubación ajustados para que la velocidad de reacción sea lineal al menos hasta 35 UI/ml. Los patrones, las muestras y el sustrato de la precalicreína pueden diluirse, si fuese necesario, con *Solución reguladora B*.

Incubar los patrones o las muestras diluidos durante 10 minutos con sustrato de precalicreína, de forma que el volumen del patrón o de la muestra sin diluir no sobrepase 1/10 del volumen total de la mezcla de incubación, para evitar errores producidos por la variación de la fuerza iónica y el pH. Incubar la mezcla o una parte de ella con un volumen igual de una solución de un sustrato cromogénico sintético que sea específico para la calicreína (por ejemplo, acetato de *N*-benzoyl-*L*-prolil-*L*-fenilalanil-*L*-arginina 4-nitroanilida o dihidrocloruro de *D*-prolil-*L*-fenilalanil-*L*-arginina 4-nitroanilida), disuelto en *Solución reguladora B*.

Medir la variación de la absorbancia por minuto $\Delta A/\text{min}$ desde el minuto 2 al minuto 10, a la longitud de onda específica para el sustrato utilizado. Preparar un blanco para cada mezcla de muestra o de patrón utilizando la *Solución reguladora B* en lugar del sustrato de precalicreína. Corregir $\Delta A/\text{min}$ sustrayendo el valor obtenido para el blanco correspondiente. Realizar una curva de calibración utilizando los valores obtenidos con los patrones y sus respectivas concentraciones; utilizar la curva para determinar la actividad de PCA de la sustancia a examinar.

415. ENSAYO PARA AGENTES EXTRAÑOS EN VACUNAS VIRALES

En aquellos ensayos que se requiere una neutralización previa del virus, utilizar anticuerpos específicos de origen no humano y no simio. Si el virus ha sido propagado en tejidos de aves los anticuerpos deben ser también de origen no aviar. Para preparar el antisuero utilizando un antígeno inmunizante producido en cultivo celular de una especie diferente de la utilizada para la producción de la vacuna y libre de agentes extraños. Cuando se indica el uso de huevos LPE, los huevos deben ser obtenidos de un criadero libre de patógenos específicos.

LOTE SEMILLA DEL VIRUS

Tomar muestras de los lotes semilla del virus en el momento de la cosecha, si no son utilizadas inmediatamente conservar a una temperatura menor de -40°C .

Ratones adultos

Inocular por lo menos diez ratones adultos entre 15 y 20 g de peso, intracerebralmente con 0,03 ml e intraperitonealmente con 0,5 ml del lote semilla del virus. Observar los ratones por lo menos durante 21 días. Realizar una autopsia a todos los ratones que murieron después de las primeras 24 horas del ensayo o que muestren signos de enfermedad y examinar para evidencia de infección viral, tanto por observación macroscópica directa como por subinoculación de una suspensión de tejido apropiada por rutas intracerebral e intraperitoneal en por lo menos cinco ratones adicionales que son observados durante 21 días. El lote semilla del virus cumple con el ensayo si ningún ratón muestra evidencia de infección atribuible al lote semilla. El ensayo sólo es válido si por lo menos el 80 % de los ratones inoculados originalmente sobreviven el período de observación.

Ratones lactantes

Inocular por lo menos veinte ratones lactantes de menos de 24 horas de edad, intracerebralmente con 0,01 ml e intraperitonealmente con no menos de 0,1 ml del lote semilla del virus. Observar los ratones diariamente por lo menos durante 14 días. Realizar una autopsia a todos los ratones que murieron después de las primeras 24 horas del ensayo o que muestren signos de enfermedad y examinar para evidencia de infección viral, tanto por observación macroscópica directa como por subinoculación de una suspensión de tejido apropiada por rutas intracerebral e intraperitoneal en por lo menos cinco ratones lactantes adicionales

que son observados diariamente por 14 días. El lote semilla del virus cumple con el ensayo si ningún ratón muestra evidencia de infección atribuible al lote semilla. El ensayo sólo es válido si por lo menos el 80 % de los ratones inoculados originalmente sobreviven el período de observación.

Cobayos

Inocular intraperitonealmente, a por lo menos cinco cobayos entre 350 a 450 g de peso, 5,0 ml del lote semilla del virus. Observar los animales por lo menos durante 42 días para ver signos de enfermedad. Realizar una autopsia a todos los cobayos que murieron después de las primeras 24 horas del ensayo o que muestren signos de enfermedad y examinar macroscópicamente y por cultivo para ver evidencia de infección. Matar los animales que sobrevivan al período de observación y examinar de manera similar. El lote semilla del virus cumple con el ensayo si ningún cobayo muestra evidencia de infección atribuible al lote semilla. El ensayo sólo es válido si por lo menos el 80 % de los cobayos sobreviven el período de observación.

LOTE SEMILLA DEL VIRUS Y COSECHAS DEL VIRUS

Tomar muestras en el momento de la cosecha y si no son utilizadas inmediatamente conservar a una temperatura menor de -40°C .

Esterilidad fúngica y bacteriana

Una muestra de 10 ml debe cumplir con los requisitos de 370. *Ensayo de esterilidad*.

Ensayo de micoplasmas <336>

Una muestra de 10 ml debe cumplir con los requisitos.

Ensayo de micobacterias <335>

Emplear 5 ml de la muestra en ensayo para verificar la ausencia de *Mycobacterium ssp.* por métodos de cultivos que sean sensibles a la detección de estos organismos.

Cultivo celular para otros agentes extraños

Inocular muestras neutralizadas equivalentes a 500 dosis humanas de vacuna o 50 ml, en cultivos continuos de riñón de simio y células humanas. Si el virus crece en células diploides humanas, la cosecha viral neutralizada se debe inocular en un cultivo separado de células diploides. Si el virus de la vacuna es desarrollado en otro sistema celular diferente a simio o humano, debe también

inocularse células de esa especie. Las células son incubadas a 36 ± 1 °C y observadas durante 14 días. El lote de semilla viral o la cosecha cumplen con los requisitos si ninguno de los cultivos celulares muestra evidencia de algún agente extraño no atribuible a una contaminación accidental. El ensayo sólo es válido si por lo menos el 80 % de los cultivos celulares permanecen viables.

Virus aviares

[NOTA: realizar este ensayo solo en virus propagados en tejidos aviares].

Neutralizar una mezcla equivalente a 100 dosis humanas o 10 ml. Inocular 0,5 ml de la muestra en ensayo a sendos huevos de un primer grupo de huevos LPE fertilizados de 9 y 11 días de edad por vía alantoica y un segundo grupo de 5 a 7 días de edad dentro del saco de la yema. Incubar durante 7 días. El lote de semilla viral o la cosecha cumplen el ensayo si los fluidos alantoicos y el saco de la yema no muestran signos de presencia de cualquier agente hemaglutinante y si todos los embriones y las membranas coreoalantoicas examinadas son normales. El ensayo sólo es válido si por lo menos el 80 % de los huevos inoculados sobreviven durante 7 días.

CULTIVO CELULAR DE PRODUCCIÓN

Examinar microscópicamente las células control para verificar la ausencia de cualquier virus causante de efecto citopático a lo largo del tiempo de incubación de los cultivos celulares de producción inoculados o como mínimo 14 días después del momento de inoculación de los frascos de producción. El ensayo sólo es válido si por lo menos el 80 % de los cultivos celulares control sobreviven hasta el final del período de observación. A los 14 días o en el momento de la última cosecha del virus, si el tiempo es mayor, proceder según se indica en *Virus hemadsorbentes*.

Virus hemadsorbentes

Examinar no menos de 25 % de los cultivos control para detectar la presencia de virus hemadsorbentes por adición de glóbulos rojos de cobayo. Las células rojas sanguíneas de cobayo se deben almacenar a 5 ± 3 °C durante no más de 7 días. Examinar la mitad de los cultivos después de la incubación a 5 ± 3 °C durante 30 minutos y la otra mitad después de la incubación entre 20 y 25 °C durante 30 minutos. La muestra cumple con los requisitos si no se encuentra evidencia de la presencia de agentes hemadsorbentes.

Cultivo celular para otros agentes extraños

Mezclar los sobrenadantes fluidos de las células control y examinar para detectar la presencia de agentes extraños por inoculación de cultivos de

células de riñón de simio o humanas. Si el virus de la vacuna desarrolla en un sistema celular deferente al humano o simio, inocular células de esas especies pero de lotes diferentes. En cada sistema celular se deben ensayar al menos 5 ml. Incubar los cultivos inoculados a una temperatura de 36 ± 1 °C y observar por un período de 14 días. La muestra cumple el ensayo si no se encuentra evidencia de la presencia de agentes extraños.

Si la producción de cultivos celulares se mantiene a una temperatura diferente de 36 ± 1 °C realizar un ensayo suplementario para agentes extraños a la temperatura de producción utilizando el mismo tipo de células que la usada para el desarrollo del virus.

Virus de la leucosis aviar

[NOTA: realizar este ensayo solo en virus propagados en tejidos aviares].

Realizar un ensayo para leucosis aviar utilizando 5 ml del fluido sobrenadante de las células control.

HUEVOS CONTROL

Agentes hemaglutinantes

Examinar 0,25 ml del fluido alantoideos de cada huevo para agentes hemaglutinantes por mezcla directa con glóbulos rojos de pollo y después de un pasaje en huevos LPE, realizado por inoculación de una muestra de 5 ml de la mezcla de fluidos alantoideos de los huevos en volúmenes de 0,5ml dentro de la cavidad alantoidea y dentro de la cavidad amniótica de los huevos SPF. Los huevos control cumplen con el ensayo si no se encuentra evidencia de la presencia de agentes hemaglutinantes en ninguno de los ensayos.

Virus de la leucosis aviar

Utilizar una muestra de 10 ml de la mezcla de fluidos amnióticos de los huevos control. Realizar una amplificación mediante cinco pasajes en cultivos celulares de embriones de pollo libres de leucosis. Realizar el ensayo para leucosis aviar utilizando células del quinto pasaje. Los huevos control cumplen con el ensayo si no se encuentra evidencia de la presencia de virus de la leucosis aviar.

Otros agentes extraños

Inocular 5 ml de muestra de las mezclas de fluidos amnióticos de los huevos control en cultivos celulares humanos y de simios. Observar los cultivos celulares durante 14 días. Los huevos control cumplen con el ensayo si no se encuentra evidencia de agentes extraños. El ensayo sólo es válido si por lo menos el 80 % de los cultivos inoculados sobreviven durante 7 días.

420. ENVASES PRIMARIOS DE PLÁSTICO

En este capítulo se describen los ensayos que deben cumplir los envases plásticos de uso farmacéutico, incluyendo los envases destinados a sangre y hemoderivados, así como también las materias primas con las cuales se fabrican.

Los polímeros generalmente empleados para la fabricación de envases son el polietileno (de baja y alta densidad), el polipropileno, el poli(cloruro de vinilo), el terftalato de polietileno y copolímeros de etileno y acetato de vinilo.

La naturaleza y la cantidad de los aditivos está determinada por el tipo de polímero, el proceso empleado para la construcción del envase y el uso para el cual el mismo está destinado. Los aditivos pueden ser antioxidantes, estabilizantes, plastificantes, lubricantes, colorantes, modificadores de impacto, etc. Los agentes antiestáticos y desmoldantes pueden emplearse únicamente en aquellos envases que serán destinados a preparaciones de uso oral o externo. Para cada tipo de material descrito en este capítulo se indican los aditivos aceptados.

El envase plástico elegido para cualquier preparación debe ser tal que, los componentes del producto, que están en contacto con el material plástico no sean significativamente adsorbidos sobre su superficie y no se produzcan migraciones desde las paredes del envase. De la misma manera, el material del envase no debe ceder cantidades apreciables de ninguna sustancia que pueda afectar la estabilidad de la preparación o presentar un riesgo de toxicidad. A fin de confirmar la compatibilidad del envase con el contenido y para asegurar que no se

produzcan cambios perjudiciales en cuanto a la calidad de la preparación, se describen diversos ensayos tales como la comprobación de la ausencia de cambios en las características físicas; la evaluación de cualquier pérdida o ganancia de materia debido a la permeabilidad del envase; la detección de cambios de pH; la evaluación de cambios ocasionados por la luz; ensayos químicos y, si así se requiere, ensayos biológicos.

MATERIALES EMPLEADOS PARA FABRICACIÓN DE ENVASES PLÁSTICOS

Los materiales que se describen a continuación se emplean para la fabricación de envases para uso farmacéutico.

Poli(cloruro de vinilo) plastificado para envases destinados a sangre humana y hemoderivados y para envases destinados a soluciones acuosas para perfusión intravenosa

Los materiales a base de poli(cloruro de vinilo) plastificado contienen diversos aditivos, además del polímero de alto peso molecular obtenido por polimerización de cloruro de vinilo.

Los materiales a base de poli(cloruro de vinilo) plastificado para envases destinados a contener sangre humana y hemoderivados y envases para soluciones acuosas para perfusión intravenosa se definen por la naturaleza y las proporciones de las sustancias empleadas en su fabricación.

Contienen no menos de 55 % de poli(cloruro de vinilo) y pueden contener los siguientes aditivos:

LÍMITES DE ADITIVOS

ADITIVOS	LÍMITES (%)
ftalato de bis(2-etilhexilo)	40
octanoato de cinc (2-etilhexanoato de cinc)	1
estearato de calcio o estearato de cinc o una mezcla de ambos	1
<i>N,N'</i> -diaciletilendiaminas (acil significa en particular palmitil y estearil)	1
no más de uno de los siguientes aceites epoxidados o una mezcla de ambos:	10
<ul style="list-style-type: none"> • aceite de soja epoxidado en el cual el contenido de oxígeno oxiránico es 6 a 8 % y el índice de yodo no es mayor a 6. • Aceite de semilla de lino epoxidado en el cual el contenido de oxígeno oxiránico no es mayor de 10 % y el índice de yodo no es mayor de 7 	

Ningún aditivo antioxidante debe agregarse al polímero. Cuando se agregan colorantes, sólo se puede agregar azul ultramarino. No se debe agregar

ningún colorante al poli(cloruro de vinilo) destinado a la fabricación de envases para sangre y hemoderivados.

CARACTERÍSTICAS

Polvo, perlas, gránulos o láminas translúcidas de espesor variable, incoloras o de color amarillo pálido.

IDENTIFICACIÓN - [NOTA: si es necesario, cortar el material a ensayar en trozos de tamaño apropiado.]

A 2,0 g del material a ensayar agregar 200 ml de éter libre de peróxidos y calentar a reflujo durante 8 horas. Separar el residuo (*B*) y la solución (*Solución A*) por filtración.

Evaporar la *Solución A* a sequedad bajo presión reducida en un baño de agua a 30 °C. Disolver el residuo en 10 ml de tolueno (*Solución A₁*). Disolver el residuo *B* en 60 ml de dicloruro de etileno, calentando en un baño de agua a reflujo y filtrar. Agregar la solución gota a gota y con agitación enérgica a 600 ml de heptano calentando a una temperatura menor a la temperatura de ebullición. Filtrar la mezcla en caliente a través de un filtro caliente para separar el material insolubilizado (*B₁*) de la solución orgánica. Dejar enfriar, separar el precipitado (*B₂*) formado y filtrar a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media, previamente pesado.

A - Absorción infrarroja <460>. Disolver el material insolubilizado *B₁* en 30 ml de tetrahidrofurano y agregar, en pequeñas porciones con agitación, 40 ml de etanol. Separar el precipitado (*B₃*) por filtración y secar al vacío a una temperatura no mayor de 50 °C sobre pentóxido de fósforo o cloruro de calcio anhidro. Disolver unos pocos mg del precipitado *B₃* en 1 ml de tetrahidrofurano. Colocar algunas gotas de la solución obtenida sobre una placa de cloruro de sodio y evaporar a sequedad entre 100 y 105 °C. Registrar el espectro de absorción infrarroja y comparar con el espectro obtenido con poli(cloruro de vinilo) SR-FA.

B - Aplicar la siguiente técnica cromatográfica.

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno.

Solución estándar - Disolver 0,8 g de ftalato de bis(2-etilhexilo) SR-FA en tolueno y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución muestra - *Solución A₁*.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 5 µl de cada solución. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartos de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejarla secar. Examinar bajo luz ultravioleta a

254 nm. El valor de R_f e intensidad de la mancha obtenida a partir de la *Solución muestra* debe ser similar a la obtenida a partir de la *Solución estándar*.

C - Absorción infrarroja <460> - Examinar el residuo obtenido en el ensayo para *Ftalato de bis(2-etilhexilo)* comparando con el espectro obtenido con Ftalato de bis(2-etilhexil) SR-FA.

ENSAYOS -

Solución indicadora - Disolver en alcohol 100 mg de azul de bromotimol, 20 mg de rojo de metilo y 200 mg de fenolftaleína. Diluir a 100 ml con el mismo solvente y filtrar.

Solución S₁ - Transferir 5,0 g del material a ensayar a una cápsula. Agregar 30 ml de ácido sulfúrico y calentar hasta obtener una masa viscosa negra. Enfriar y agregar con precaución 10 ml de solución de peróxido de hidrógeno al 30 % y calentar suavemente. Dejar enfriar y agregar 1 ml de solución de peróxido de hidrógeno al 30 %, repetir el agregado y evaporación de la solución de peróxido de hidrógeno al 30 % hasta obtener un líquido incoloro. Reducir el volumen hasta 10 ml. Enfriar y diluir a 50,0 ml con agua.

Solución S₂ - Transferir 25 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato. Agregar 500 ml de *Agua para Inyectables* y cubrir la boca del erlenmeyer con un vaso de precipitados de vidrio al borosilicato. Calentar en autoclave a 121 ± 2 °C durante 20 minutos. Dejar enfriar y decantar la solución. Diluir la solución a 500 ml.

Aspecto de la solución S₂ - Debe ser transparente e incolora.

Acidez o alcalinidad - A 100 ml de *Solución S₂*, agregar 0,15 ml de *Solución indicadora*. No se deben requerir más de 1,5 ml de hidróxido de sodio 0,01 N para cambiar el color del indicador a azul. A 100 ml de *Solución S₂*, agregar 0,2 ml de naranja de metilo (SR). No se debe requerir más de 1,0 ml de ácido clorhídrico 0,01 N para iniciar el cambio de color del indicador de amarillo a anaranjado.

Absorbancia - Evaporar 100 ml de *Solución S₂* a sequedad. Disolver el residuo en 5 ml de hexano. Entre 250 y 310 nm la absorbancia no debe ser mayor de 0,25.

Sustancias reductoras - Efectuar el ensayo dentro de las 4 horas de preparada la *Solución S₂*. A 20,0 ml de *Solución S₂* agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido y 20,0 ml de permanganato de potasio 0,002 M. Calentar a reflujo durante 3 minutos y enfriar inmediatamente. Agregar 1 g de ioduro de potasio y titular inmediatamente con tiosulfato de sodio 0,01 N, empleando 0,25 ml de almidón (SR)

como indicador. Realizar una determinación con un blanco empleando 20 ml de *Agua para Inyectables* y hacer las correcciones necesarias. La diferencia entre los volúmenes consumidos no debe ser mayor de 2,0 ml.

Aminas aromáticas primarias –

Solución muestra - A 2,5 ml de *Solución A₁* obtenida en la *Identificación*, agregar 6 ml de agua y 4 ml de ácido clorhídrico 0,1 M. Agitar vigorosamente y descartar la fase orgánica. A la fase acuosa agregar 0,4 ml de una solución de nitrito de sodio al 1 % recientemente preparada. Mezclar y dejar en reposo durante 1 minuto. Agregar 0,8 ml de una solución de sulfamato de amonio al 2,5 %, dejar en reposo durante 1 minuto y agregar 2 ml de una solución de diclorhidrato de *N*-(1-Naftil)etilendiamina al 0,5 %. [NOTA: realizar el ensayo a bajas temperaturas.]

Solución estándar - Proceder según se indica para la *Solución muestra*, reemplazando la fase acuosa por una mezcla de 1 ml de una solución de naftilamina 0,001 % en ácido clorhídrico 0,1 M, 5 ml de agua y 4 ml de ácido clorhídrico 0,1 M (20 ppm).

Después de 30 minutos, el color de la *Solución muestra* no debe ser más intenso que el de la *Solución estándar* preparada al mismo tiempo.

***N,N'*-diaciletilendiaminas** - Lavar con etanol el precipitado *B₂* obtenido en la *Identificación* y contenido en el filtro de vidrio sinterizado previamente pesado. Secar hasta peso constante sobre pentóxido de fósforo y pesar el filtro. El precipitado no debe pesar más de 20 mg.

Aceites epoxidados –

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía de 1 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa, en forma de banda de 30 mm por 3 mm, 0,5 ml de *Solución A₁* obtenida en la *Identificación*. Dejar secar la aplicación y desarrollar el cromatograma hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartos de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente. Secar la placa cuidadosamente. Exponer la placa a vapores de yodo durante 5 minutos. Examinar el cromatograma y localizar la banda con un *R_f* de 0 y, si estuviera presente, la banda secundaria con un *R_f* de aproximadamente 0,7, ambas correspondientes a aceites epoxidados. Remover el área del gel de sílice que corresponde a la banda o bandas. En forma similar remover un área de gel de sílice para preparar un blanco. Separadamente

agitar ambas muestras durante 15 minutos con 40 ml de metanol. Filtrar y evaporar a sequedad. Pesar los dos residuos. La diferencia entre los pesos no debe ser mayor de 10 mg.

Ftalato de bis(2-etilhexilo) - Examinar el cromatograma obtenido en el ensayo para *Aceites epoxidados* bajo luz ultravioleta a 254 nm y localizar la zona que corresponde a ftalato de bis(2-etilhexilo). Remover el área del gel de sílice que corresponde a esta zona y agitarla con 40 ml de éter. Filtrar sin pérdidas y evaporar a sequedad. El residuo obtenido no debe pesar más de 40 mg.

Cloruro de vinilo -

Sistema cromatográfico (ver 100. *Cromatografía*) - Emplear un cromatógrafo de gases equipado con un detector de ionización a la llama, y una columna de 3 m x 3 mm rellena con tierra de diatomea silanizada para cromatografía impregnada con 5 % p/p de dimetil estearilamida y 5 % p/p de polietilenglicol 400. Mantener la columna, el inyector y el detector a aproximadamente 45, 100 y 150 °C, respectivamente. Se emplea nitrógeno como gas transportador con un caudal de aproximadamente 30 ml por minuto.

Solución del estándar interno - Empleando una microjeringa, transferir 10 µl de éter en 20,0 ml de *N,N*-Dimetilacetamida, sumergiendo la punta de la aguja en el solvente. Inmediatamente antes de usar, diluir la solución 1 en 1.000 con *N,N*-Dimetilacetamida.

Solución madre del estándar de cloruro de vinilo - Preparar bajo una campana extractora. Transferir 50,0 ml de *N,N*-Dimetilacetamida a un recipiente de 50 ml, tapar el recipiente y pesar a la décima de mg. Llenar una jeringa de 50 ml de polietileno o polipropileno con cloruro de vinilo gaseoso, dejar que el gas este en contacto con la jeringa aproximadamente 3 minutos, vaciar la jeringa y llenar nuevamente con 50 ml de cloruro de vinilo gaseoso. Adaptar una aguja hipodérmica a la jeringa y reducir el volumen de gas en la jeringa hasta 25 ml. Inyectar estos 25 ml de cloruro de vinilo lentamente en el recipiente y agitarlo suavemente evitando el contacto entre el líquido y la aguja. Pesar el recipiente nuevamente, el aumento de peso es de aproximadamente 60 mg (1 µl de la solución así obtenida contiene aproximadamente 1,2 µg de cloruro de vinilo).

Solución estándar de cloruro de vinilo - A 1 volumen de *Solución madre del estándar de cloruro de vinilo* agregar 3 volúmenes de *N,N*-Dimetilacetamida.

Soluciones estándar - Transferir 10,0 ml de *Solución del estándar interno* a cada uno de seis recipientes de 50 ml. Cerrar los recipientes. Inyectar 1;

2; 3; 5 y 10 µl, respectivamente, de *Solución estándar de cloruro de vinilo* en cinco de los recipientes. Las seis soluciones así obtenidas contienen respectivamente, 0 µg; aproximadamente 0,3; 0,6; 0,9; 1,5 y 3 µg de cloruro de vinilo. Agitar, evitando el contacto entre el tapón y el líquido. Colocar los recipientes en un baño de agua a 60 ± 1 °C durante 2 horas.

Solución muestra - Transferir 1,0 g del material a ensayar a un recipiente de 50 ml y agregar 10,0 ml de *Solución del estándar interno*. Cerrar el recipiente. Agitar, evitando el contacto entre el tapón y el líquido. Colocar el recipiente en un baño de agua a 60 ± 1 °C durante 2 horas.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo 1 ml del espacio libre superior de cada recipiente, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. Calcular el contenido de cloruro de vinilo. No debe estar presente más de 1 ppm de cloruro de vinilo.

Fósforo total -

Solución estándar - Mezclar 0,5 ml de una solución de fosfato monobásico de potasio que contiene 0,219 g por litro, 10 ml de agua y 25 ml de molibdovanádico (SR) y diluir a 50,0 ml con agua (100 ppm).

Solución muestra - Calcinar 0,25 g del material a ensayar en un crisol de platino con 0,2 g de carbonato de sodio anhidro y 50 mg de nitrato de potasio. Después de enfriar tomar el residuo con agua, y transferir a un matraz aforado de 50 ml. Lavar el crisol con agua, agregar los lavados al matraz, acidificar con ácido sulfúrico al 60 % p/p hasta que cese la efervescencia. Agregar 25 ml de molibdovanádico (SR) y diluir a 50,0 ml con agua.

El ensayo es válido si la coloración amarilla producida en la *Solución muestra* no es más intensa que la de la *Solución estándar*.

Bario -

Solución estándar - Mezclar 1,2 ml de una solución, preparada disolviendo 0,178 g de cloruro de bario dihidratado en 100,0 ml, diluida 1 en 20 (50 ppm de Ba); 0,8 ml de agua y 3 ml de solución de sulfato de calcio, preparada agitando 5 g de sulfato de calcio con 100 ml de agua durante 1 hora, y filtrar.

Solución muestra - Calcinar 2,0 g del material a ensayar en un crisol de sílice. Mezclar el residuo con 10 ml de ácido clorhídrico y evaporar a sequedad en un baño de agua. Tomar este residuo con dos porciones de 1 ml de agua. Filtrar y agregar 3 ml de solución de sulfato de calcio preparada agitando 5 g de sulfato de calcio con 100 ml de agua durante 1 hora y filtrar.

El ensayo es válido si la opalescencia de la *Solución muestra* no es más intensa que la de la *Solución estándar*.

Cadmio - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución madre del estándar - Disolver 0,100 g de cadmio en el menor volumen posible de una mezcla de ácido clorhídrico y agua (50:50). Diluir a 100,0 ml con ácido clorhídrico al 1 % v/v para obtener una solución de concentración conocida de 0,1 % de Cd.

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar empleando la *Solución madre del estándar* diluida con ácido clorhídrico al 1 % v/v.

Solución muestra - Evaporar 10 ml de la *Solución S₁* a sequedad. Tomar el residuo con 5 ml de ácido clorhídrico al 1 % v/v, filtrar y diluir el filtrado a 10,0 ml con el mismo ácido.

Procedimiento - Medir la absorbancia a 228,8 nm empleando una lámpara de cadmio de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama de aire-acetileno. No debe estar presente más de 0,6 ppm de Cd.

Calcio - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución madre del estándar - Inmediatamente antes de usar, diluir 1 en 10 con agua una solución preparada con 1,000 g de carbonato de calcio y 23 ml de ácido clorhídrico 1 M y diluida a 100,0 ml con agua (400 ppm de Ca).

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar empleando la *Solución madre del estándar*, diluida con agua.

Solución muestra - Calcinar 2,0 g del material a ensayar en un crisol de sílice. Mezclar el residuo con 10 ml de ácido clorhídrico y evaporar a sequedad en un baño de agua. Tomar este residuo con 5 ml de agua, filtrar y diluir a 25,0 ml con el mismo solvente.

Procedimiento - Medir la absorbancia a 422,7 nm empleando una lámpara de calcio de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama de aire-acetileno. No debe estar presente más de 0,07 % de Ca.

Metales pesados -

Solución reguladora de acetato pH 3,5 - Disolver 25,0 g de acetato de amonio en 25,0 ml de agua y agregar 38,0 ml de ácido clorhídrico al 25 %. Ajustar a pH 3,5 si fuera necesario, con ácido clorhídrico 2 M o con amoníaco diluido y diluir a 100 ml con agua.

Solución estándar - Proceder según se indica para la *Solución muestra* empleando una mezcla de 10 ml de *Solución estándar de plomo* diluida 1:5

(ver 590. *Límite de metales pesados*) y 2 ml de la *Solución muestra*.

Solución muestra - A 10 ml de *Solución S₁* agregar 0,5 ml de fenolftaleína (SR) y luego solución concentrada de hidróxido de sodio al 42 % hasta obtener un color rosa pálido. Diluir a 25 ml con agua. A 12 ml de la solución así obtenida agregar 2 ml de *Solución reguladora de acetato pH 3,5* y mezclar. A continuación agregar 1,2 ml de tioacetamida-glicerina básica (SR) y mezclar inmediatamente.

Solución blanco - Proceder según se indica para la *Solución muestra* empleando una mezcla de 10 ml de agua y 2 ml de la *Solución muestra*.

Después de 2 minutos, la coloración parda de la *Solución muestra* no debe ser más intensa que la de la *Solución estándar*.

Estaño –

Solución muestra - A 10 ml de *Solución S₁* agregar 0,3 ml de ácido tioglicólico y 30 ml de agua. Mezclar y agregar 2 ml de una solución de lauril sulfato de sodio al 1 % y 1 ml de una solución de ditiol, recientemente preparada, que contiene 5 g/l en etanol y diluir a 50 ml con agua.

Solución madre del estándar - Disolver 0,500 g de estaño en una mezcla de 5 ml de agua y 25 ml de ácido clorhídrico, y diluir a 1 litro. Inmediatamente antes de usar transferir 1 ml de esta solución a una matraz aforado de 100 ml y diluir a volumen con ácido clorhídrico al 2,5 %v/v (5 ppm de Sn).

Solución estándar - Proceder según se indica para la *Solución muestra*, empleando 10 ml de ácido sulfúrico al 20 % v/v y 6 ml de *Solución madre del estándar*.

Después de 15 minutos, el color de la *Solución muestra* no debe ser más intenso que el de la *Solución estándar*.

Cinc - [NOTA: preparar un blanco empleando 10 ml de agua. El ensayo no es válido a menos que la fase inferior obtenida con el blanco sea de color verde.]

Solución reguladora de acetato de pH 4,4 - Disolver 136 g de acetato de sodio y 77 g de acetato de amonio en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Agregar 250,0 ml de ácido acético glacial y mezclar.

Solución muestra - Diluir 1 ml de *Solución S₁* a 100 ml con agua. A 10 ml de la solución resultante agregar 5 ml de *Solución reguladora de acetato de pH 4,4*; 1 ml de tiosulfato de sodio 0,1 M y 5,0 ml de una solución de ditizona en cloroformo que contiene 0,01 g/l y agitar.

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad de sulfato de cinc, equivalente a 0,440 g de ZnSO₄ · 7H₂O, en agua. Agregar 1 ml de ácido

acético y diluir a 100 ml con agua. Diluir 1 ml de esta solución a 10 ml con agua. Antes de usar diluir 1 ml de esta solución a 10 ml con agua (10 ppm de Zn).

Solución estándar - Proceder según se indica para la *Solución muestra*, empleando una mezcla de 2 ml de una *Solución madre del estándar* y 8 ml de agua (0,2 %).

Después de 2 minutos, el color violeta de la fase inferior de la *Solución muestra* no debe ser más intenso que el de la fase inferior de la *Solución estándar*.

Residuo de evaporación - Evaporar a sequedad 50 ml de *Solución S₂* en un baño de agua y secar entre 100 y 150 °C. El residuo no debe pesar más de 7,5 mg (0,3 %).

VALORACIÓN

Llevar a cabo el método de combustión (ver 60. *Combustión en erlenmeyer con oxígeno*), empleando 50,0 mg del material a ensayar. Absorber los productos de combustión en 20 ml de hidróxido de sodio 1 N. A la solución obtenida agregar 2,5 ml de ácido nítrico, 10,0 ml de nitrato de plata 0,1 N, 5 ml de sulfato férrico amónico (SR) y 1 ml de ftalato de dibutilo. Titular con tiocianato de amonio 0,05 N hasta obtener un color amarillo-rojizo. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 6,25 mg de poli(cloruro de vinilo).

Poliolefinas

Las poliolefinas se obtienen por polimerización de etileno o propileno o por copolimerización de estas sustancias con no más de 25 % de homólogos mayores (C₄ a C₁₀) o de ácidos carboxílicos o ésteres. Ciertos materiales pueden ser mezclas de poliolefinas.

Pueden contener hasta tres antioxidantes, uno o varios lubricantes o antibloqueantes. Cuando el material debe proveer protección de la luz se le agregan agentes opacantes como el dióxido de titanio.

Este texto es aplicable a todas las poliolefinas empleadas para propósitos médico-farmacéuticos con la excepción de los otros materiales poliolefinicos descritos en este capítulo.

CARACTERÍSTICAS

Polvo, perlas, gránulos o, después de su transformación, láminas de espesor variable o envases. Prácticamente insolubles en agua, etanol, hexano y metanol; solubles en hidrocarburos aromáticos calientes. Se ablandan a temperaturas entre 65 y 165 °C. Se queman con una llama azul.

IDENTIFICACIÓN

A - Absorción infrarroja <460>. A 0,25 g del material a ensayar agregar 10 ml de tolueno y calentar a reflujo durante 15 minutos. Colocar algunas gotas de la solución obtenida sobre una placa de cloruro de sodio y evaporar el solvente en una estufa a 80 °C. El espectro del material presenta máximos de absorción a 2.920; 2.850; 1.475; 1.465; 1.380; 1.170; 735 y 720 cm^{-1} , el espectro obtenido debe ser idéntico al espectro obtenido con el material seleccionado como referencia. [NOTA: si el material a ensayar se presenta en forma de láminas, el espectro puede determinarse directamente sobre un trozo de tamaño apropiado.]

B - Debe cumplir con los *Ensayos suplementarios* para los aditivos presentes.

C - En un crisol de platino, mezclar aproximadamente 20 mg del material a ensayar con 1 g de sulfato ácido de potasio y calentar hasta fundir completamente. Dejar enfriar y agregar 20 ml de ácido sulfúrico diluido. Calentar suavemente y filtrar la solución resultante. Al filtrado agregar 1 ml de ácido fosfórico y 1 ml de solución de peróxido de hidrógeno al 30 %. Si la sustancia contiene dióxido de titanio como opacante, se desarrolla un color anaranjado-amarillento.

ENSAYOS - [NOTA: si es necesario, cortar las muestras del material a ensayar en trozos de tamaño apropiado.]

Solución S₁ - Transferir 25 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 500 ml de *Agua para Inyectables* y calentar a reflujo durante 5 horas. Dejar enfriar y decantar. Reservar una porción de la solución para el ensayo de *Aspecto de la solución S₁* y filtrar el resto a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media. Emplear la *Solución S₁* dentro de las 4 horas de su preparación.

Solución S₂ - Transferir 2,0 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 80 ml de tolueno y calentar a reflujo con agitación constante durante 90 minutos. Enfriar a 60 °C y agregar, con agitación constante, 120 ml de metanol. Filtrar la solución a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media. Lavar el erlenmeyer y el filtro con 25 ml de una mezcla de 40 ml de tolueno y 60 ml de metanol, agregar el lavado al filtrado y diluir a 250 ml con la misma mezcla. Preparar un blanco.

Solución S₃ - Transferir 100 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 250 ml de ácido clorhídrico 0,1 M y calentar a reflujo con agitación constante durante 1 hora. Dejar enfriar y decantar la solución.

Solución indicadora - Disolver en alcohol 0,1 g de azul de bromotimol, 20 mg de rojo de metilo y 0,2 g de fenoltaleína. Diluir a 100 ml con el mismo solvente y filtrar.

Aspecto de la solución S₁ - La *Solución S₁* debe ser transparente e incolora.

Acidez o alcalinidad - A 100 ml de la *Solución S₁* agregar 0,15 ml de *Solución indicadora*. No se deben requerir más de 1,5 ml de hidróxido de sodio 0,01 N para cambiar el color del indicador a azul. A 100 ml de *Solución S₁* agregar 0,2 ml de naranja de metilo (SR). No se debe requerir más de 1 ml de ácido clorhídrico 0,01 N para iniciar el cambio de color del indicador de amarillo a anaranjado.

Absorbancia - Entre 220 y 340 nm, la absorbancia de la *Solución S₁* no debe ser mayor de 0,2.

Sustancias reductoras - A 20 ml de la *Solución S₁* agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido y 20 ml de permanganato de potasio 0,002 M. Calentar a reflujo durante 3 minutos y enfriar inmediatamente. Agregar 1 g de ioduro de potasio y titular inmediatamente con tiosulfato de sodio 0,01 N, empleando 0,25 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. La diferencia entre los volúmenes no debe ser mayor de 3,0 ml.

Metales pesados extraíbles -

Solución reguladora de acetato pH 3,5 - Disolver 25,0 g de acetato de amonio en 25,0 ml de agua y agregar 38,0 ml de ácido clorhídrico al 25 %. Ajustar a pH 3,5 si fuera necesario, con ácido clorhídrico 2 M o con amoníaco diluido y diluir a 100 ml con agua.

Solución muestra - Concentrar 50 ml de *Solución S₃* hasta aproximadamente 5 ml en baño de agua y diluir a 20 ml con agua. A 12 ml de la solución así obtenida agregar 2 ml de *Solución reguladora de acetato pH 3,5* y mezclar. A continuación agregar 1,2 ml de tioacetamida-glicerina básica (SR) y mezclar inmediatamente.

Solución estándar - Proceder según se indica para la *Solución muestra* empleando una mezcla de 2,5 ml de *Solución estándar de plomo* (ver 590. *Límite de metales pesados*) y 2 ml de la *Solución muestra*.

Solución blanco - Proceder según se indica para la *Solución muestra* empleando una mezcla de 10 ml de agua y 2 ml de la *Solución muestra*.

Después de 2 minutos, la coloración parda de la *Solución muestra* no debe ser más intensa que la de la *Solución estándar*. No deben encontrarse más de 2,5 ppm.

Residuo de ignición <270> - No más de 1,0 %, determinado sobre 5,0 g. Este límite no se aplica a los materiales que contienen dióxido de titanio como opacante.

ENSAYOS SUPLEMENTARIOS - [NOTA: estos ensayos se realizan totalmente o en parte sólo si son requeridos de acuerdo a la composición o el uso del material.]

Antioxidantes fenólicos -

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 25 cm × 4,6mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice porosa de 5 µm de diámetro.

Fase móvil - Se puede emplear una de las cuatro mezclas siguientes:

Fase móvil 1 - Acetonitrilo y agua (70:30) con un caudal de aproximadamente 2 ml por minuto.

Fase móvil 2 - Acetonitrilo, tetrahydrofurano y agua (60:30:10) con un caudal de aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil 3 - Metanol, 2-propanol y agua (50:45:5) con un caudal de aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil 4 - Acetonitrilo y tetrahydrofurano (80:20) con un caudal de aproximadamente 1,5 ml por minuto.

[NOTA: de las siguientes *Soluciones estándar*, preparar únicamente las necesarias para el ensayo de los antioxidantes fenólicos declarados en la composición del material a ensayar.]

Solución estándar A - Disolver 25 mg de butilhidroxitolueno y 60 mg de 3,3-bis(3-*ter*-butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno en 10 ml de una mezcla acetonitrilo y tetrahydrofurano (50:50). Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 60 mg de tetrakis [3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)-propionato] de pentaeritritilo y 60 mg de 2,2',2'',6,6',6''-hexa-*ter*-butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-benceno-triil)trismetileno]trifenol en 10 ml de una mezcla de acetonitrilo y tetrahydrofurano (50:50). Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar C - Disolver 60 mg de 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo y 60 mg de fosfito tris(2,4-di-*ter*-butilfenilo) en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar D - Disolver 25 mg de butilhidroxitolueno en 10 ml de una mezcla de acetoni-

trilo y tetrahydrofurano (50:50). Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar E - Disolver 60 mg de 3,3-bis(3-*ter*-butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno en 10 ml de una mezcla de acetonitrilo y tetrahydrofurano (50:50). Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar F - Disolver 60 mg de 1,3,5-tris[3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxibencil]-s-triazina-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona en 10 ml de una mezcla de acetonitrilo y tetrahydrofurano (50:50). Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar G - Disolver 60 mg de tetrakis [3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)pro-pionato] de pentaeritritilo en 10 ml de una mezcla de acetonitrilo y tetrahydrofurano (50:50). Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar H - Disolver 60 mg de 2,2',2'',6,6',6''-hexa-*ter*-butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-benceno-triil)trismetileno]trifenol en 10 ml de una mezcla de acetonitrilo y tetrahydrofurano (50:50). Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar I - Disolver 60 mg de 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar J - Disolver 60 mg de fosfito de tris (2,4-di-*ter*-butilfenilo) en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar K - Disolver 20 mg de P-EPQ en 10 ml de una mezcla de volúmenes iguales de acetonitrilo y una solución de hidroperóxido de terbutilo en tetrahydrofurano con una concentración de 10 g/l. Dejar reposar en un recipiente cerrado durante 1 hora. Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con una mezcla de acetonitrilo y tetrahydrofurano (50:50).

Solución muestra S₂₁ - Evaporar 50 ml de la *Solución S₂* a sequedad al vacío a 45 °C. Disolver el residuo en 5 ml de acetonitrilo y tetrahydrofurano (50:50). Preparar una solución blanco a partir del blanco correspondiente a la *Solución S₂*.

Solución muestra S₂₂ - Evaporar 50 ml de la *Solución S₂* a sequedad al vacío a 45 °C. Disolver el residuo con 5 ml de cloruro de metileno. Preparar una solución blanco a partir de la solución blanco que corresponde a la *Solución S₂*.

Solución muestra S₂₃ - Evaporar 50 ml de la *Solución S₂* a sequedad al vacío a 45 °C. Disolver el residuo con 5 ml de una mezcla de volúmenes iguales de acetonitrilo y una solución de hidroperóxido de terbutilo en tetrahydrofurano con una concentración de 10 g/l. Cerrar el matraz y dejar reposar durante 1 hora. Preparar una solución blanco a

partir de la solución blanco que corresponde a la Solución S_2 .

Aptitud del sistema - (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la Solución estándar A, empleando Fase móvil 1, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución, R , entre los picos de butilhidroxitolueno y 3,3-bis(3-*ter*-butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno no debe ser menor de 8. Cromatografiar la Solución estándar B, empleando Fase móvil 2, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución R entre los picos de tetrakis [3-(3,5-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato] de pentaeritritilo y 2,2',2'',6,6',6''-hexa-*ter*-butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil)tris-metileno]trifenol no debe ser menor de 2. Cromatografiar la Solución estándar C, empleando Fase móvil 3, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución R entre los picos de 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo y fosfito de tris(2,4-di-*ter*-butilfenilo) no debe ser menor de 2. Cromatografiar la Solución estándar E, empleando Fase móvil 4, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución R entre los picos principales (con tiempos de retención de aproximadamente 3,5 y 5,8) no debe ser menor de 6.

Procedimiento -

Emplear Fase móvil 1 si el material a ensayar contiene butilhidroxitolueno y/o 3,3-bis(3-*ter*-butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno. Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la Solución muestra S_{21} , el blanco correspondiente, la Solución estándar A, y las Soluciones estándar D o E o 20 μ l de las Soluciones estándar D y E.

Emplear Fase móvil 2 si el material a ensayar contiene uno o varios de los siguientes antioxidantes:

- 1,3,5-tris(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxibencil)-s-triazina-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-triona,
- tetrakis [3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato] de pentaeritritilo,
- 2,2',2'',6,6',6''-hexa-*ter*-butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil) trismetileno] trifenol,
- 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo,
- fosfito de tris(2,4-di-*ter*-butilfenilo),

Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la Solución muestra S_{21} , el blanco correspondiente, la Solución estándar B y cada una de las Soluciones

estándar de antioxidantes de la lista anterior que son declarados en la composición.

Emplear Fase móvil 3 si el material a ensayar contiene 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil) propionato de octadecilo y/o fosfito de tris(2,4-di-*ter*-butilfenilo). Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la Solución muestra S_{22} , el blanco correspondiente, la Solución estándar C, y la Solución estándar I o J o 20 μ l de las Soluciones estándar I y J.

Emplear Fase móvil 4 si la sustancia a ensayar contiene P-EPQ. Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20 μ l) de la Solución muestra S_{23} , el blanco correspondiente y la Solución, estándar K.

En todos los casos registrar los cromatogramas durante 30 minutos. Los cromatogramas correspondientes a las Soluciones muestra S_{21} , S_{22} y S_{23} deben presentar únicamente picos debidos a los antioxidantes declarados en la composición y otros picos menores que también aparecen en los cromatogramas correspondientes a los blancos. Las respuestas de los picos de las Soluciones muestra S_{21} , S_{22} y S_{23} deben ser menores que las respuestas correspondientes a los picos obtenidos a partir de las Soluciones estándar D a K.

Antioxidantes no-fenólicos -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil 1 - Hexano.

Fase móvil 2 - Cloruro de metileno.

Solución estándar L - Disolver 60 mg de 2,2'-bis(octadeciloxi)-5,5'-espirobi [1,3,2-dioxafosforinano] en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 2 ml de esta solución a 10 ml con cloruro de metileno acidificado (SR).

Solución estándar M - Disolver 60 mg de disulfuro de dioctadecilo en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 2 ml de esta solución a 10 ml con cloruro de metileno acidificado (SR).

Solución estándar N - Disolver 60 mg de 3,3'-tiodipropionato de didodecilo en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 2 ml de esta solución a 10 ml con cloruro de metileno acidificado (SR).

Solución estándar O - Disolver 60 mg de 3,3'-tiodipropionato de dioctadecilo en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 2 ml de esta solución a 10 ml con cloruro de metileno acidificado (SR).

Solución estándar P - Disolver 60 mg de 3,3'-tiodipropionato de didodecilo y 60 mg de 3,3'-tiodipropionato de dioctadecilo en 10 ml de cloruro

de metileno. Diluir 2 ml de esta solución a 10 ml con cloruro de metileno acidificado (SR).

Solución muestra S₂₄ - Evaporar 100 ml de la *Solución S₂* a sequedad en vacío a 45 °C. Disolver el residuo en 2 ml de cloruro de metileno acidificado (SR).

Revelador - Preparar una solución de iodo al 1 % en etanol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 20 µl de la *Solución muestra S₂₄*, 20 µl de la *Solución estándar P* y 20 µl de cada una de las *Soluciones estándar* que corresponden a todos los antioxidantes fenólicos y no-fenólicos presentes en la composición del material a ensayar. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 18 cm empleando *Fase móvil 1*. Retirar la placa de la cámara y dejar secar. Desarrollar nuevamente los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 17 cm empleando *Fase móvil 2*. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejar secar. Examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*, dejar secar durante 10 a 15 minutos y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm. Cualquier mancha en el cromatograma de la *Solución muestra S₂₄* no debe ser más intensa que las manchas correspondientes obtenidas a partir de las *Soluciones estándar*. El ensayo no es válido a menos que el cromatograma de la *Solución estándar P* presente dos manchas claramente separadas.

Amidas y estearatos –

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil 1 - 2,2,4-Trimetilpentano y etanol (75:25).

Fase móvil 2 - Hexano.

Fase móvil 3 - Cloruro de metileno y metanol (95:5).

Solución estándar Q - Disolver 20 mg de ácido esteárico en 10 ml de cloruro de metileno.

Solución estándar R - Disolver 40 mg de oleamida en 20 ml de cloruro de metileno.

Solución estándar S - Disolver 40 mg de erucamida en 20 ml de cloruro de metileno.

Solución muestra - *Solución S₂₄* preparada en *Antioxidantes no fenólicos*.

Revelador 1 - Solución de 2,6-Dicloro-fenolindofenol sódico al 0,2 % en etanol.

Revelador 2 - Solución de ácido fosfomolibdico al 4 % en etanol.

Procedimiento - Aplicar sobre dos placas 10 µl de la *Solución S₂₄*. Aplicar sobre la primera placa 10 µl de la *Solución estándar Q* y aplicar sobre la segunda placa 10 µl de las *Soluciones estándar R* y *S*. Dejar secar las aplicaciones. Desarrollar la primera placa, hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm empleando *Fase móvil 1*. Retirar la placa de la cámara, marcar el frente del solvente y dejarla secar al aire. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 1*. Calentar en una estufa a 120 °C durante unos minutos para intensificar las manchas. Cualquier mancha que corresponda a ácido esteárico en el cromatograma de la *Solución muestra S₂₄* debe ser idéntica en posición (*R_f* aproximadamente de 0,5) pero no más intensa que la mancha obtenida a partir de la *Solución estándar Q*.

Desarrollar la segunda placa hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 13 cm empleando *Fase móvil 2*. Retirar la placa de la cámara y dejar secar al aire. Desarrollar nuevamente hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm empleando *Fase móvil 3*. Retirar la placa de la cámara y marcar el frente del solvente. Dejar secar la placa. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 2*. Calentar en una estufa a 120 °C hasta que aparezcan las manchas. Las manchas que corresponden a erucamida u oleamida en el cromatograma de la *Solución muestra S₂₄* deben ser idénticas en posición (*R_f* aproximadamente de 0,2) pero no más intensas que las manchas obtenidas a partir de las *Soluciones estándar R* y *S*.

Sustancias solubles en hexano - Transferir 10 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de 250 ml con boca esmerilada. Agregar 100 ml de hexano y calentar a reflujo durante 4 horas, agitando constantemente. Enfriar en un baño de hielo y filtrar rápidamente (el tiempo de filtración debe ser menor de 5 minutos, si es necesario la filtración puede ser acelerada aplicando presión sobre la solución) a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media manteniendo la solución a aproximadamente 0 °C. Evaporar 20 ml del filtrado en un cristizador previamente pesado en un baño de agua. Secar el residuo en una estufa entre 100 y 105 °C durante 1 hora. El peso del residuo obtenido debe ser igual al del residuo obtenido a partir del material de referencia, con una desviación máxima de ± 10 % y dicho peso no debe ser mayor de 5 %.

Aluminio extraíble - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción, y emisión atómica*).

Solución madre del estándar - Disolver en agua una cantidad de sulfato de potasio y aluminio, equivalente a 352 mg de $AlK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$. Agregar

10 ml de ácido sulfúrico diluido y diluir a 100 ml con agua (200 ppm de Al).

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar empleando la *Solución madre del estándar* diluida con ácido clorhídrico 0,1 M.

Solución muestra - Evaporar a sequedad 100 ml de *Solución S₃* en un baño de agua. Disolver el residuo en 2 ml de ácido clorhídrico y diluir a 10 ml con ácido clorhídrico 0,1 M.

Procedimiento - Medir la absorbancia a 309,3 nm empleando una lámpara de aluminio de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama de óxido nitroso-acetileno. No debe contener más de 1 ppm de Al extraíble.

Titanio extraíble - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución muestra - Evaporar a sequedad 100 ml de *Solución S₃* en un baño de agua. Disolver el residuo en 2 ml de ácido clorhídrico y diluir a 10,0 ml con ácido clorhídrico 0,1 M.

Solución madre del estándar - Disolver 100,0 mg de titanio en 100 ml de ácido clorhídrico diluido hasta 150 ml con agua, calentando si fuera necesario. Dejar enfriar y diluir a 1 litro con agua (100 ppm de Ti).

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar empleando la *Solución madre del estándar* diluida con ácido clorhídrico 0,1 M.

Procedimiento - Medir la absorbancia a 364,3 nm empleando una lámpara de titanio de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama de óxido nitroso-acetileno. No debe contener más de 1 ppm de Ti extraíble.

Cinc extraíble - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad de sulfato de cinc, equivalente a 440 mg de ZnSO₄ · 7H₂O, en agua. Agregar 1 ml de ácido acético y diluir a 100 ml con agua. Diluir 1 ml de esta solución a 10 ml con agua. Antes de usar, diluir 1 ml de esta solución a 10 ml con agua (10 ppm de Zn).

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar empleando una *Solución madre del estándar* diluida con ácido clorhídrico 0,1 M.

Solución muestra - *Solución S₃*.

Procedimiento - Medir la absorbancia a 213,9 nm empleando una lámpara de cinc de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama de acetileno-aire. No debe contener más de 1 ppm de Zn extraíble.

LÍMITES DE ADITIVOS

ADITIVOS	LÍMITES (%)
<i>Aditivos antioxidantes</i> -	
butilhidroxitolueno	0,125
tetrakis [3-(3,5-di- <i>ter</i> -butil-4 hidroxifenil)propionato] de pentaeritritilo	0,3
1,3,5-tris(3,5-di- <i>ter</i> -butil-4-hidroxibencil)-s-triazina-2,4,6-(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> ,5 <i>H</i>)triona	0,3
3-(3,5-di- <i>ter</i> -butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo	0,3
3,3-bis(3- <i>ter</i> - butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno	0,3
disulfuro de dioctadecilo	0,3
2,2',2'',6,6',6''-hexa- <i>ter</i> -butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil)trismetileno]trifenol	0,3
2,2'-bis(octadeciloxi)-5,5'-espirobi(1,3,2-dioxafosforinano)	0,3
3,3'-tiodopropionato de didodecilo	0,3
3,3'- tiodipropionato de dioctadecilo	0,3
fosfito de tris(2,4-di- <i>ter</i> -butilfenilo)	0,3
P-EPQ	0,1
copolímero de succinato de dimetilo y (4-hidroxi-2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-il)etanol	0,3
El total de de aditivos antioxidante enumerados anteriormente	0,3
<i>Otros aditivos</i> -	
hidrocalcita	0,5
alcanoamidas	0,5

LÍMITES DE ADITIVOS – continuación

ADITIVOS	LÍMITES (%)
alquenoamidas	0,5
silicio-aluminato de sodio	0,5
silice	0,5
benzoato de sodio	0,5
ésteres o sales de ácidos grasos	0,5
fosfato trisódico	0,5
vaselina líquida	0,5
óxido de cinc	0,5
talco	0,5
estearato de calcio o cinc o una mezcla de ambos	0,5
dióxido de titanio	4
óxido de magnesio	0,2

Polietileno de baja densidad para envases destinados a preparaciones para uso parenteral y para preparaciones oftálmicas

El polietileno de baja densidad que cumple con los siguientes requisitos se emplea en la fabricación de envases para preparaciones de uso parenteral y oftálmico.

El polietileno de baja densidad se obtiene por polimerización de etileno a altas presiones en presencia de oxígeno o catalizadores. El material no debe poseer aditivos.

CARACTERISTICAS

Perlas, gránulos, láminas translúcidas de espesor variable, prácticamente insoluble en agua, etanol y metanol. Se ablanda por encima de los 80 °C. Se quema con una llama azul.

IDENTIFICACION

A - Absorción infrarroja <460>. A 250 mg del material a ensayar, agregar 10 ml de tolueno y calentar a reflujo durante 15 minutos. Colocar unas gotas de la solución sobre un disco de cloruro de sodio y evaporar el solvente a 80 °C. El espectro del material a ensayar debe presentar máximos en particular a 2.920; 2.850; 1.465; 731 y; 722 cm⁻¹; y el espectro debe ser idéntico al obtenido con el material seleccionado como referencia. [NOTA: si el material a ensayar se presenta en forma de láminas, el espectro puede determinarse directamente sobre un trozo de tamaño apropiado.]

B - A 2 g de material a ensayar agregar 100 ml de agua y calentar a reflujo durante 2 horas. Dejar enfriar. La densidad relativa del material (ver 160. *Determinación de la densidad relativa*) debe estar entre 0,910 y 0,935.

ENSAYOS - [NOTA: si es necesario, cortar el material en trozos de tamaño apropiado.]

Solución indicadora - Disolver en alcohol 100 mg de azul de bromotimol, 20 mg de rojo de metilo y 0,2 g de fenolftaleína. Diluir a 100 ml con el mismo solvente y filtrar.

Solución S - Transferir 25 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 500 ml de agua y calentar a reflujo durante 5 horas. Dejar enfriar y decantar.

Aspecto de la solución - La *Solución S* debe ser transparente, incolora y prácticamente inodora.

Acidez o alcalinidad - A 100 ml de *Solución S* agregar 0,15 ml de *Solución indicadora*. No se deben requerir más de 1,5 ml de hidróxido de sodio 0,01 N para cambiar el color del indicador a azul. A 100 ml de la *Solución S* agregar 0,2 ml de naranja de metilo (SR). No se debe requerir más de 1,0 ml de ácido clorhídrico 0,01 N para iniciar el cambio de color del indicador de amarillo a anaranjado.

Sustancias solubles en hexano - Transferir 5 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 50 ml de hexano, adaptar un refrigerante y calentar en un baño de agua con agitación constante durante 4 horas. Enfriar en un baño de hielo, se puede formar un gel. Adaptar una camisa de enfriamiento, llena de agua helada, a un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media adaptado con un dispositivo que permite aplicar presión durante la filtración.

Dejar enfriar el filtro durante 15 minutos. Filtrar la solución de hexano aplicando una presión de 27 kPa sin lavar el residuo; el tiempo de filtración no debe exceder 5 minutos. Evaporar 20 ml de la solución hasta sequedad. Secar el residuo a 100 °C durante 1 hora. El residuo no debe pesar más de 60 mg (3 %).

Sustancias reductoras - A 20 ml de *Solución S* agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido y 20 ml de permanganato de potasio 0,002 M. Calentar a reflujo durante 3 minutos y enfriar inmediatamente. Agregar 1 g de ioduro de potasio y titular inmediatamente con tiosulfato de sodio 0,01 N, empleando 0,25 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. La diferencia entre los volúmenes no debe ser mayor de 0,5 ml.

Aditivos –

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil 1 - Hexano.

Fase móvil 2 - Cloruro de metileno y metanol (95:5).

Solución muestra - Transferir 2,0 g del material a ensayar y 5 ml de cloroformo a un recipiente de 10 ml de paredes gruesas de vidrio tipo I ó II (ver 430. *Envases de vidrio*). Cerrar el mismo con un tapón de goma recubierto con politetrafluoretileno. Colocar el recipiente en un baño de agua a 85 °C durante 2 horas. Retirarlo, invertirlo y dejarlo enfriar. Decantar la solución clorofórmica transparente.

Solución estándar - Disolver 20 mg de disulfuro de dioctadecilo y 20 mg de bis[3,3-bis(3-*ter*-butil-4-hidroxifenil)butirato] de etileno en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Revelador - Solución de ácido fosfomolibdico al 4 % en alcohol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre la placa 10 µl de cada solución. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 13 cm empleando *Fase móvil 1*. Retirar la placa de la cámara y dejarla secar al aire. Desarrollar nuevamente los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm empleando *Fase móvil 2*. Retirar la placa de la cámara y dejarla secar al aire. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar a 120 °C hasta que las manchas aparezcan en el cromatograma de la *Solución estándar*. No debe aparecer ninguna mancha en el cromatograma de la *Solución muestra*, a excepción de una mancha que puede estar en el frente del solvente del primer desarrollo y que corresponde a oligómeros. El cromatograma de la *Solución estándar* debe presentar dos manchas separadas.

Residuo de ignición - <270>. No debe ser mayor de 200 ppm, determinado sobre 10 g.

Polietileno de alta densidad para envases destinados a preparaciones de uso parenteral

El polietileno de alta densidad que cumple con los siguientes requisitos es apropiado para la fabricación de envases y tapones destinados a preparaciones de uso parenteral.

El polietileno de alta densidad (también llamado de "baja presión") es obtenido por polimerización de etileno a baja presión en presencia de catalizadores.

LÍMITES DE ADITIVOS Y ESTABILIZANTES

ADITIVOS	LÍMITES (%)
<i>Estabilizantes – puede contener no mas de tres de los siguientes estabilizantes:</i>	
butilhidroxitolueno	0,125
Tetrakis [3-(3,5-di- <i>ter</i> -butil-4-hidroxifenil)propionato de pentaeritritilo	0,2
3-(3,5-di- <i>ter</i> -butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo	0,2
3,3-bis(3- <i>ter</i> -butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno	0,2
2,2',2'',6,6',6''-hexa- <i>ter</i> -butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil)trismetileno] trifenol	0,2
2,2'-bis(octadeciloxi)-5,5'-espirobi [1,3,2-dioxafosforinano]	0,2
3,3'-tiodipropionato de didodecilo	0,2
3,3'-tiodipropionato de dioctadecilo	0,2
<i>Aditivos</i>	
estearato de calcio o estearato de cinc o una mezcla de ambos	0,5

CARACTERISTICAS

Polvo, perlas, gránulos o láminas translúcidas de espesor variable. Es prácticamente insoluble en agua, etanol, hexano y metanol; soluble en caliente en hidrocarburos aromáticos. Se ablanda a tempe-

raturas mayores de 120 °C. Se quema con una llama azul.

IDENTIFICACION

A - Absorción infrarroja <460>. A 250 mg del material a ensayar agregar 10 ml de tolueno y ca-

lentar a reflujo durante aproximadamente 15 minutos. Colocar unas gotas de la solución sobre una placa de cloruro de sodio y evaporar el solvente a 80 °C. Los máximos de absorción en el espectro obtenido con el material ensayado deben corresponder en posición e intensidad relativa a los del espectro obtenido con el polietileno de alta densidad SR-FA. [NOTA: si el material a ensayar se presenta en forma de láminas, el espectro puede determinarse directamente sobre un trozo de tamaño apropiado.]

B - A 2 g del material a ensayar agregar 100 ml de agua, calentar a reflujo durante 2 horas y dejar enfriar. La densidad relativa del material (ver 160. *Determinación de la densidad relativa*) debe estar entre 0,935 y 0,965.

ENSAYOS

[NOTA: si es necesario, cortar el material en trozos de tamaño apropiado.]

Solución indicadora - Disolver en alcohol 100 mg de azul de bromotimol, 20 mg de rojo de metilo y 200 mg de fenolftaleína. Diluir a 100 ml con el mismo solvente y filtrar.

Solución S₁ - Transferir 2,0 g de material a ensayar y 5 ml de cloroformo acidificado (SR) a un recipiente de 10 ml de paredes gruesas de vidrio tipo I ó II (ver 430. *Envases de vidrio*). Cerrar el recipiente con un tapón de goma cubierto con politetrafluoroetileno. Colocar el mismo en un baño de agua a 85 °C durante 2 horas. Invertirlo y enfriarlo. Decantar la solución clorofórmica transparente.

Solución S₂ - Transferir 25 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 500 ml de agua y calentar a reflujo durante 5 horas. Dejar enfriar y decantar la solución. Reservar una porción de la solución para el ensayo *Aspecto de la solución S₂* y filtrar el resto a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media. Emplear dentro de las 4 horas de preparación.

Solución S₃ - Transferir 100 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 200 ml de ácido clorhídrico 0,1 M y calentar a reflujo con agitación constante durante 1 hora. Enfriar, filtrar y evaporar el filtrado a sequedad. Disolver el residuo en 2 ml de ácido clorhídrico y diluir a 10,0 ml con ácido clorhídrico 0,1 M.

Aspecto de la solución S₂ - Debe ser transparente e incolora.

Acidez o alcalinidad - A 100 ml de *Solución S₂* agregar 0,15 ml de *Solución indicadora*. No se deben requerir más de 1,5 ml de hidróxido de sodio 0,01 N para cambiar el color del indicador a azul. A 100 ml de *Solución S₂*, agregar 0,2 ml de naranja

de metilo (SR). No se deben requerir más de 1 ml de ácido clorhídrico 0,01 N para iniciar el cambio de color del indicador de amarillo a anaranjado.

Absorbancia - A longitudes de onda entre 220 y 340 nm, la absorbancia de la *Solución S₂*, no debe ser mayor de 0,2.

Sustancias reductoras - A 20 ml de *Solución S₂* agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido y 20 ml de permanganato de potasio 0,002 M. Dejar reposar a temperatura ambiente durante 15 minutos. Agregar 1 g de ioduro de potasio y titular inmediatamente con tiosulfato de sodio 0,01 N, empleando 0,25 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. La diferencia entre los volúmenes no debe ser mayor de 0,5 ml.

Aditivos -

Fase estacionaria - Emplear tres placas para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil 1 - Hexano.

Fase móvil 2 - Cloruro de metileno y hexano (80:20).

Fase móvil 3 - Cloruro de metileno y metanol (95:5).

Solución estándar A - Disolver 5 mg de butilhidroxitolueno en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 8 mg de tetraakis [3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxi-fenil)propionato] de pentaeritrito en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar C - Disolver 8 mg de 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar D - Disolver 8 mg de 3,3-bis(3-*ter*-butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar E - Disolver 8 mg de 2,2',2'',6,6',6''-hexa-*ter*-butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil)trismetilen]trifenol en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar F - Disolver 8 mg de 2,2'-bis(octadeciloxi)-5,5'-espirobi [1,3,2-dioxafosforinano] en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar G - Disolver 8 mg de 3,3'-tiodipropionato de didodecilo en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar H - Disolver 8 mg de 3,3'-tiodipropionato de dioctadecilo en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar I - Disolver 20 mg de ácido esteárico en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución muestra - Solución S₁

Revelador 1 - Solución de cloruro férrico al 5 % recientemente preparada.

Revelador 2 - Solución de ferricianuro de potasio al 5 %.

Revelador 3 - Acido sulfúrico.

Revelador 4 - Solución de ácido fósfolímbdico al 4 % en alcohol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre cada placa 10 µl de cada solución. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 13 cm empleando *Fase móvil 1*. Retirar las placas de la cámara y dejar secar al aire.

Para la segunda placa, desarrollar nuevamente los cromatogramas en la misma dirección hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm empleando *Fase móvil 2*. Retirar la placa de la cámara y dejar secar al aire.

Para la tercera placa, desarrollar nuevamente los cromatogramas en la misma dirección hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm empleando *Fase móvil 3*. Retirar la placa de la cámara y dejar secar al aire.

Examinar la primera placa bajo luz ultravioleta a 254 nm. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar una mancha que corresponde a la mancha en el cromatograma de la *Solución estándar A*. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 1* y luego con *Revelador 2*. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar una mancha que corresponde a la mancha en el cromatograma de la *Solución estándar A*.

Pulverizar sobre la segunda placa con *Revelador 1* y luego con *Revelador 2*. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar las manchas que corresponden a las manchas en los cromatogramas de las *Soluciones estándar A, B y D*. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 3* y calentar a 120 °C hasta que las manchas aparezcan en los cromatogramas de las *Soluciones estándar F, G y H*. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar las manchas que corresponden a esas soluciones en los cromatogramas de las *Soluciones estándar*.

Pulverizar sobre la tercera placa con *Revelador 4* y calentar a 120 °C hasta que aparezcan las manchas en los cromatogramas de las *Soluciones estándar*. Las manchas aparecen rápidamente en los cromatogramas de las *Soluciones estándar A, B, C, D, E, F, G y H*. La mancha en el cromatograma

de la *Solución estándar I* debe aparecer más lentamente. El cromatograma de la *Solución muestra* no debe presentar más de tres manchas y éstas corresponden a las manchas en los cromatogramas de las *Soluciones estándar A, B, C, D, E, F, G o H*; debe presentar también una mancha que corresponde a la mancha en el cromatograma de la *Solución estándar I*. Las manchas en el cromatograma de la *Solución muestra* no deben ser más intensas que las manchas correspondientes en los cromatogramas de las *Soluciones estándar*.

[NOTA: en el cromatograma de la *Solución muestra* cualquier mancha cercana al frente del solvente desde el primer desarrollo no debe tenerse en cuenta (polímeros de bajo peso molecular-relativo).]

Circonio - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad de nitrato de circonio, equivalente a 293 mg de $[\text{ZrO}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$, en una mezcla de agua y ácido clorhídrico (8:2). Diluir a 100 ml con la misma mezcla de solventes para obtener una solución con una concentración conocida de 0,1 % de Zr.

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar empleando la *Solución madre del estándar* diluida con una mezcla de agua y ácido clorhídrico (8:2).

Solución muestra - Solución S₃

Procedimiento - Medir la absorbancia a 360,1 nm empleando una lámpara de circonio de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama de óxido nitroso-acetileno. No debe estar presente más de 100 ppm de Zr.

Cromo - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad de dicromato de potasio, equivalente a 283 mg de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, en agua y diluir a 1 litro con el mismo solvente para obtener una solución que contenga 100 ppm de Cr.

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar empleando la *Solución madre del estándar* diluida con una mezcla de agua y ácido clorhídrico (8:2).

Solución muestra - Solución S₃

Procedimiento - Medir la absorbancia a 358,0 nm empleando una lámpara de cromo de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama de aire-acetileno. No debe estar presente más de 0,05 ppm de Cr.

Vanadio - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad de vanadato de amonio, equivalente a 230 mg de NH_4VO_3 , en agua y diluir a 100,0 ml con el mismo solvente (0,1 % de V).

Solución estándar - Preparar las soluciones estándar empleando la *Solución madre del estándar* diluida con una mezcla de agua y ácido clorhídrico (8:2).

Solución muestra - Solución S₃

Procedimiento - Medir la absorbancia a 318,3 nm empleando una lámpara de vanadio de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama

de acetileno-óxido nitroso. No debe estar presente más de 10 ppm de V.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,2 %, determinado sobre 5 g.

Polipropileno para envases y tapones destinados a preparaciones de uso parenteral

El polipropileno consiste en un homopolímero de propileno o de un copolímero de propileno con hasta 20 % de etileno o de una mezcla de polipropileno con hasta un 20 % de polietileno.

LIMITES DE ADITIVOS Y ESTABILIZANTES

ADITIVOS	LÍMITES (%)
<i>Estabilizantes – puede contener no más de tres de los siguientes estabilizantes:</i>	
Tetrakis [3-(3,5-di- <i>ter</i> -butil-4-hidroxifenil)propionato de pentaeritritilo	0,3
3-(3,5-di- <i>ter</i> -butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo	0,3
3,3-bis(3- <i>ter</i> -butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno	0,3
2,2',2'',6,6',6''-hexa- <i>ter</i> -butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil)trismetilen] trifenol	0,3
2,2'-bis(octadeciloxi)-5,5'-espirobi [1,3,2-dioxafosforinano]	0,3
3,3'-tiodipropionato de didodecilo	0,3
3,3'-tiodipropionato de dioctadecilo	0,3
disulfuro de dioctadecilo	0,3
butilhidroxitolueno	0,125
<i>Aditivos</i>	
estearato de calcio o estearato de cinc o una mezcla de ambos	0,2

CARACTERÍSTICAS

Polvo, perlas, gránulos o láminas translúcidas de espesor variable. El polipropileno es prácticamente insoluble en agua, etanol y metanol; es también prácticamente insoluble en hexano el cual disuelve polímeros residuales de bajo peso molecular; ligeramente soluble en decalina, tetralina, tolueno y xileno a ebullición. Se ablanda a temperaturas por encima de 150 °C. Se quema con una llama azul.

IDENTIFICACIÓN

Absorción infrarroja <460>. A 250 mg del material a ensayar agregar 10 ml de tolueno y calentar a reflujo durante aproximadamente 15 minutos. Colocar unas gotas de la solución caliente sobre una placa de cloruro de sodio y evaporar el solvente a 80 °C. Los máximos de absorción en el espectro obtenido corresponden en posición e intensidad relativa a los del espectro obtenido con polipropileno SR-FA. Los espectros de copolímeros y mezclas deben presentar un máximo adicional aproximadamente a 720 cm^{-1} . [NOTA: si el material a ensayar se presenta en forma de láminas, el espectro puede determinarse directamente sobre un trozo de tamaño apropiado].

ENSAYOS - [NOTA: si es necesario, cortar el material en trozos de tamaño apropiado].

Solución indicadora - Disolver en alcohol 100 mg de azul de bromotimol, 20 mg de rojo de metilo y 200 mg de fenolftaleína. Diluir a 100 ml con el mismo solvente y filtrar.

Solución S₁ - Transferir 2,0 g del material a ensayar y 5 ml de cloroformo acidificado (SR) a un recipiente de 10 ml de paredes gruesas de vidrio tipo I ó II (ver 430. *Envases de vidrio*). Cerrar el recipiente con un tapón elastomérico con una cubierta de politetrafluoroetileno y asegurar el tapón. Colocar el recipiente en un baño de agua a 85 °C durante 2 horas. Retirarlo, invertirlo y dejarlo enfriar. Decantar la solución clorofórmica transparente.

Solución S₂ - Transferir 25 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 500 ml de agua y calentar a reflujo durante 5 horas. Dejar enfriar y decantar la solución. Reservar una porción de la solución para el ensayo *Aspecto de la solución S₂* y filtrar el resto a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media.

Solución S₃ - Transferir 100 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca

esmerilada. Agregar 200 ml de ácido clorhídrico 0,1 M y calentar a reflujo con agitación constante durante 1 hora. Enfriar, filtrar y evaporar el filtrado a sequedad. Disolver el residuo en 2 ml de ácido clorhídrico y diluir a 10,0 ml con ácido clorhídrico 0,1 M.

Acidez o alcalinidad - A 100 ml de *Solución S₂*, agregar 0,15 ml de *Solución indicadora*. No se deben requerir más de 1,5 ml de hidróxido de sodio 0,01 N para cambiar el color del indicador a azul. A 100 ml de *Solución S₂* agregar 0,2 ml de naranja de metilo (SR). No se debe requerir más de 1,0 ml de ácido clorhídrico 0,01 N para iniciar el cambio de color del indicador de amarillo a anaranjado.

Absorbancia - A longitudes de onda entre 220 y 340 nm, la absorbancia de la *Solución S₂* no debe ser mayor de 0,5.

Sustancias reductoras - A 20 ml de la *Solución S₂* agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido y 20 ml de permanganato de potasio 0,002 M. Calentar a reflujo durante 3 minutos y enfriar inmediatamente. Agregar 1 g de ioduro de potasio y titular inmediatamente con tiosulfato de sodio 0,01 N, empleando 0,25 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. La diferencia entre los volúmenes no debe ser mayor de 0,5 ml.

Sustancias solubles en hexano - Transferir 10 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 50 ml de hexano, adaptar un refrigerante y calentar en un baño de agua a 75 °C con agitación constante durante 4 horas. Enfriar en agua helada y filtrar rápidamente a través de un filtro de vidrio sinterizado. Evaporar 10 ml del filtrado a sequedad en un recipiente, previamente pesado y secar el residuo entre 100 y 105 °C durante 1 hora. El residuo no debe pesar más de 0,1 g (5 %).

Aditivos -

Fase estacionaria - Emplear tres placas para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubiertas con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil 1 - Hexano.

Fase móvil 2 - Cloruro de metileno y éter de petróleo (80:20).

Fase móvil 3 - Cloruro de metileno y metanol (95:5).

Solución estándar A - Disolver 5 mg de butilhidroxitolueno en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 12 mg de tetrakis [3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato] de pentaeritritilo en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar C - Disolver 12 mg de 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar D - Disolver 12 mg de 3,3-bis(3-*ter*-butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar E - Disolver 12 mg de 2,2',2'',6,6',6''-hexa-*ter*-butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil) trismetilen] trifenol en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar F - Disolver 12 mg de 2,2'-bis(octadeciloxi)-5,5'-espirobi [1,3,2-dioxafosforinano] en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar G - Disolver 12 mg de 3,3'-tiodipropionato de didodecilo en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar H - Disolver 12 mg de 3,3'-tiodipropionato de dioctadecilo en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar I - Disolver 8 mg de ácido esteárico en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución estándar J - Disolver 12 mg de disulfuro de dioctadecilo en cloroformo y diluir a 10 ml con el mismo solvente.

Solución muestra - Solución S₁

Revelador 1 - Solución de cloruro férrico al 5 % recientemente preparada.

Revelador 2 - Solución de ferricianuro de potasio al 5 %.

Revelador 3 - Acido sulfúrico.

Revelador 4 - Solución de ácido fosfomolibdico al 4 % en alcohol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre cada placa 10 µl de cada solución. Dejar secar las aplicaciones y desarrollar los cromatogramas hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 13 cm empleando *Fase móvil 1*. Retirar las placas de la cámara y dejarlas secar al aire.

Para la segunda placa, desarrollar nuevamente los cromatogramas en la misma dirección hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm empleando *Fase móvil 2*.

Para la tercera placa, desarrollar nuevamente los cromatogramas en la misma dirección hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm empleando *Fase móvil 3*.

Retirar las placas de las cámaras y dejarlas secar al aire. Examinar la primera placa bajo luz ultravioleta a 254 nm. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar una mancha que corresponde a la mancha en el cromatograma de la *Solución estándar A* y *J*. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 1* y luego con *Revelador 2*. El cromatograma de la *Solución muestra*

debe presentar una mancha que corresponde a la mancha en el cromatograma de la *Solución estándar A*.

Pulverizar sobre la segunda placa con *Revelador 1* y luego con *Revelador 2*. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar las manchas que corresponden a las manchas en los cromatogramas de las *Soluciones estándar A, B, D y J*. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 3* y calentar la placa a 120 °C hasta que las manchas aparezcan en los cromatogramas de estas *Soluciones estándar F, G y H*. El cromatograma de la *Solución muestra* debe presentar manchas que corresponden a las presentes en los cromatogramas de estas *Soluciones estándar*.

Pulverizar sobre la tercera placa con *Revelador 4* y calentar a 120 °C hasta que las manchas aparezcan en los cromatogramas de las *Soluciones estándar*. Las manchas aparecen rápidamente en los cromatogramas de las *Soluciones estándar A, B, C, D, E, F, G y H*. La mancha en el cromatograma de la *Solución estándar I* aparece más lentamente. El cromatograma de la *Solución muestra* no debe presentar más de tres manchas y éstas corresponden a las manchas en los cromatogramas de las *Soluciones estándar A, B, C, D, E, F, G o H*; puede mostrar también una mancha que corresponde a la mancha en el cromatograma de la *Solución estándar 1*. Las manchas en el cromatograma de la *Solución muestra* no deben ser más intensas que las manchas correspondientes en los cromatogramas de las *Soluciones estándar*.

[NOTA: en el cromatograma de la *Solución muestra*, cualquier mancha cercana al frente del solvente empleado para el primer desarrollo no debe tenerse en cuenta (polímeros de bajo peso molecular relativo)].

Cromo - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad de dicromato de potasio, equivalente a 0,283 g de $K_2Cr_2O_7$, en agua y diluir a 1 litro con el mismo solvente (100 ppm de Cr).

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar empleando la *Solución madre del estándar* diluida con una mezcla de agua y ácido clorhídrico (8:2).

Solución muestra - Solución S₃

Procedimiento - Medir la absorbancia a 358,0 nm empleando una lámpara de cromo de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama de aire-acetileno. No debe contener más de 0,05 ppm de Cr.

Vanadio - (ver 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*).

Solución madre del estándar - Disolver una cantidad de vanadato de amonio, equivalente a 0,230 g de NH_4VO_3 , en agua y diluir a 100,0 ml con el mismo solvente (0,1 % de V).

Soluciones estándar - Preparar las soluciones estándar empleando la *Solución madre del estándar* diluida con una mezcla de agua y ácido clorhídrico (8:2).

Solución muestra - Solución S₃

Procedimiento - Medir la absorbancia a 318,3 nm empleando una lámpara de vanadio de cátodo hueco como fuente de radiación y una llama de acetileno-óxido nítrico. No debe contener más de 10 ppm de V.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,2 %, determinado sobre 5 g.

Copolímero de etileno-acetato de vinilo para envases y tubos destinados a preparaciones para nutrición parenteral

El copolímero de etileno-acetato de vinilo se obtiene por copolimerización de mezclas de etileno y acetato de vinilo. Contiene una cantidad definida de acetato de vinilo no superior a un 25 % en los materiales que se emplean para fabricar envases y no superior a un 30 % en los materiales que se emplean para fabricar tubos.

LÍMITE DE ADITIVOS Y ESTABILIZANTES

ADITIVOS	LÍMITES (%)
<i>Estabilizantes – puede contener no más de tres de los siguientes estabilizantes:</i>	
butilhidroxitolueno	0,125
tetrakis [3-(3,5-di- <i>ter</i> -butil-4-hidroxifenil)propionato de pentaeritritilo	0,2
3-(3,5-di- <i>ter</i> -butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo	0,2
fosfito de tris(2,4-di- <i>ter</i> -butilfenilo)	0,2
2,2',2'',6,6',6''-hexa- <i>ter</i> -butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil)trismetilen] trifenol	0,2
<i>Aditivos -</i>	
oleamida o erucamida	0,2
estearato de calcio o estearato de cinc o una mezcla de ambos	0,5
carbonato de calcio o hidróxido de potasio	0,5
dióxido de silicio	0,2

CARACTERÍSTICAS

Perlas, gránulos o, luego de ser transformado, láminas translúcidas o tubos de espesor variable. Es prácticamente insoluble en agua, etanol, metanol y hexano. Sin embargo el hexano disuelve los polímeros residuales de bajo peso molecular. Soluble en hidrocarburos aromáticos calientes. Se quema con una llama azul. La temperatura a la cual el material se ablanda varía con el contenido de acetato de vinilo; siendo aproximadamente de 100 °C para materiales de bajo contenido y de aproximadamente 70 °C para materiales cuyo contenido es de 30 %.

IDENTIFICACIÓN - [NOTA: si es necesario, cortar el material en trozos de tamaño apropiado].

Absorción infrarroja <460>. A 250 mg del material a ensayar agregar 10 ml de tolueno y calentar a reflujo durante aproximadamente 15 minutos. Colocar unas gotas de la solución obtenida sobre una placa de cloruro de sodio y evaporar el solvente a 80 °C. El espectro obtenido debe presentar los siguientes máximos de absorción que corresponden al acetato de vinilo: 1.740; 1.375; 1.240; 1.020 y 610 cm^{-1} y máximos que corresponden al etileno en las posiciones siguientes: 2.920 a 2.850; 1.470; 1.460; 1.375; 730 y 720 cm^{-1} . El espectro obtenido debe ser, además, idéntico al obtenido con la sustancia de referencia. [NOTA: si el material a ensayar está en forma de láminas, el espectro puede determinarse directamente sobre un trozo de tamaño apropiado.]

ENSAYOS - [NOTA: si es necesario, cortar el material en trozos de tamaño apropiado.]

Solución indicadora - Disolver en alcohol 100 mg de azul de bromotimol, 20 mg de rojo de metilo y 200 mg de fenoltaleína. Diluir a 100 ml con el mismo solvente y filtrar.

Solución S₁ - Transferir 2,0 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 80 ml de tolueno y calentar a reflujo con agitación constante durante 90 minutos. Dejar enfriar a 60 °C y agregar 120 ml de metanol con agitación constante. Filtrar la solución a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media. Lavar el erlenmeyer y el filtro con 25 ml de una mezcla de 40 ml de tolueno y 60 ml de metanol, agregar el lavado al filtrado y diluir a 250 ml con la misma mezcla de solventes.

Solución S₂ - Transferir 25 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 500 ml de *Agua para Inyectables* y calentar a reflujo durante 5 horas. Dejar enfriar y decantar la solución. Reservar una porción de la solución para el ensayo *Aspecto de la solución S₂* y filtrar el resto a través de un filtro de

vidrio sinterizado. Emplear dentro de las 4 horas de su preparación.

Aspecto de la solución S₂ - Debe ser transparente e incolora.

Acidez o alcalinidad - A 100 ml de la *Solución S₂* agregar 0,15 ml de *Solución indicadora*. No se deben requerir más de 1,0 ml de hidróxido de sodio 0,01 N para cambiar el color del indicador a azul. A 100 ml de *Solución S₂* agregar 0,2 ml de naranja de metilo (SR). No se deben requerir más de 1,5 ml de ácido clorhídrico 0,01 N para iniciar el cambio de color del indicador de amarillo a anaranjado.

Absorbancia - A longitudes de onda entre 220 y 340 nm, la absorbancia de la *Solución S₂* no debe ser mayor de 0,20.

Sustancias reductoras - 20 ml de la *Solución S₂* agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido y 20 ml de permanganato de potasio 0,002 M. Calentar a reflujo durante 3 minutos y enfriar inmediatamente. Agregar 1 g de yoduro de potasio y titular inmediatamente con tiosulfato de sodio 0,01 N, empleando 0,25 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. La diferencia entre los volúmenes no debe ser mayor de 0,5 ml.

Amidas y ácido esteárico

Fase estacionaria - Emplear dos placas para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil 1 - 2,2,4-Trimetilpentano y etanol (75:25).

Fase móvil 2 - Hexano

Fase móvil 3 - Cloruro de metileno y metanol (95:5).

Solución estándar A - Disolver 20 mg de ácido esteárico en 10 ml de cloruro de metileno.

Solución estándar B - Disolver 40 mg de oleamida en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 1 ml de esta solución a 5 ml con cloruro de metileno.

Solución estándar C - Disolver 40 mg de erucamida en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 1 ml de esta solución a 5 ml con cloruro de metileno.

Solución muestra - Evaporar a sequedad, aplicando vacío y a 45 °C, 100 ml de la *Solución S₁*. Disolver el residuo en 2 ml de cloruro de metileno acidificado (SR).

Revelador - Acido fosfomolibdico al 4 % en etanol.

Procedimiento - Aplicar por separado sobre cada placa 10 μl de cada solución. Dejar secar las aplicaciones. Desarrollar la primera placa hasta que

el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm empleando *Fase móvil 1*. Retirar la placa de la cámara y dejarla secar. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar a 120 °C durante unos minutos para intensificar las manchas. Cualquier mancha que corresponda a ácido esteárico en el cromatograma de la *Solución muestra* no debe ser más intensa que la mancha principal en el cromatograma de la *Solución estándar A*.

Desarrollar la segunda placa hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 13 cm empleando *Fase móvil 2*. Retirar la placa de la cámara y dejarla secar. Desarrollar nuevamente hasta que el frente del solvente haya recorrido aproximadamente 10 cm empleando *Fase móvil 3*. Retirar la placa de la cámara y dejarla secar. Pulverizar sobre la placa con *Revelador*. Calentar en una estufa a 120 °C hasta que las manchas aparezcan. Cualquier mancha que corresponda a erucamida u oleamida en el cromatograma de la *Solución muestra* no debe ser más intensa que las manchas correspondientes en los cromatogramas de las *Soluciones estándar B y C*.

Antioxidantes fenólicos

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos de un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 25 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice porosa de 5 µm de diámetro. El caudal es de aproximadamente 1,5 ml por minuto.

Fase móvil - Emplear una de las dos mezclas siguientes:

Fase móvil 1 - Acetonitrilo, tetrahydrofurano y agua (60:30:10).

Fase móvil 2 - Metanol, 2-propanol y agua (50:45:5).

Solución estándar A - Disolver 25 mg de butilhidroxitolueno, 40 mg de 2,2',2'',6,6',6''-hexa-*ter*-butil-4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil) trismetilen]trifenol, 40 mg de tetrakis [3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato] de pentaeritritilo y 40 mg de 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil) propionato de octadecilo en 10 ml de una mezcla de acetonitrilo y tetrahydrofurano (50:50). Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución estándar B - Disolver 40 mg de 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil) propionato de octadecilo y 40 mg de fosfito de tris(2,4-di-*ter*-butilfenilo) en 10 ml de cloruro de metileno. Diluir 2 ml de esta solución a 50 ml con el mismo solvente.

Solución muestra A - Evaporar a sequedad, aplicando vacío y a 45 °C, 50 ml de *Solución S₁*.

Disolver el residuo en 5 ml de una mezcla de acetonitrilo y tetrahydrofurano (50:50).

Solución muestra B - Evaporar a sequedad, aplicando vacío y a 45 °C, 50 ml de *Solución S₁*. Disolver el residuo en 5 ml de cloruro de metileno.

Aptitud del sistema - (ver 100. *Cromatografía*)

Empleando Fase móvil 1 - Cromatografiar la *Solución estándar A*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: La eficiencia de la columna calculada para el pico de butilhidroxitolueno no debe ser menor de 2.500 platos teóricos y la resolución, *R*; entre los picos de tetrakis [3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato] de pentaeritritilo y 2,2',2'',6,6',6''-hexa-*ter*-butil-(4,4',4''-[(2,4,6-trimetil-1,3,5-bencenotriil) trismetilen]trifenol no debe ser menor de 2,0.

Empleando Fase móvil 2 - Cromatografiar la *Solución estándar B*, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: la resolución, *R*, entre los picos de 3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo y fosfito de tris(2,4-di-*ter*-butilfenilo) no debe ser menor de 2,0.

Procedimiento - *Empleando Fase móvil 1*, inyectar por separado en el cromatógrafo 20 µl de *Solución muestra A* y 20 µl de *Solución estándar A*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. El cromatograma de la *Solución muestra A* debe presentar únicamente los picos principales que corresponden a los picos en el cromatograma de la *Solución estándar A* con un tiempo de retención mayor de 2 minutos. Las respuestas de los picos en el cromatograma de la *Solución muestra A* no deben ser mayores que las de los picos correspondientes en el cromatograma de la *Solución estándar A*, a excepción del último pico eluido en el cromatograma de la *Solución estándar A*.

Si el cromatograma de la *Solución muestra A* presenta un pico con el mismo tiempo de retención que el último antioxidante eluido con la *Solución estándar A*, emplear *Fase móvil 2* y proceder según se indica a continuación:

Inyectar por separado en el cromatógrafo 20 µl de *Solución muestra B* y 20 µl de *Solución estándar B*. Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales. El cromatograma de la *Solución muestra B* debe presentar sólo picos principales que corresponden a los picos en el cromatograma de la *Solución estándar B* con un tiempo de retención mayor de 3 minutos.

Las respuestas de los picos en el cromatograma de la *Solución muestra B* no deben ser mayores que las de los picos correspondientes en el cromatograma de la *Solución estándar B*.

Sustancias solubles en hexano - Transferir 5 g del material a ensayar a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada. Agregar 50 ml de hexano y calentar a reflujo en un baño de agua con agitación constante durante 4 horas. Enfriar en un baño de hielo (se puede formar un gel). Adaptar una camisa de enfriamiento, llena de agua helada, a un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media adaptado con un dispositivo que permita aplicar presión durante la filtración.

Dejar enfriar el filtro durante 15 minutos. Filtrar la solución de hexano aplicando una presión de 27 kPa sin lavar el residuo; el tiempo de filtración no debe exceder de 5 minutos. Evaporar 20 ml de la solución a sequedad. Secar a 100 °C durante 1 hora. El residuo no debe pesar más de 40 mg (2 %) para copolímeros empleados en la fabricación de envases y no más de 0,1 g (5 %) para copolímeros empleados para tubos.

Residuo de ignición <270> - No más de 1,2 %, determinado sobre 5,0 g.

VALORACION

Transferir de 250 mg a 1 g del material a ensayar, según el contenido de acetato de vinilo del copolímero a ensayar, a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato de boca esmerilada de 300 ml. Agregar 40 ml de xileno. Calentar a reflujo con agitación durante 4 horas. Dejar enfriar, con agitación continua, hasta que comience la precipitación. Agregar lentamente 25,0 ml de una solución de hidróxido de potasio alcohólico preparada disolviendo 6,6 g de hidróxido de potasio en 50 ml de agua y diluyendo a 1 litro con etanol. Calentar a reflujo con agitación durante 3 horas. Dejar enfriar con agitación continua, lavar el refrigerante con 50 ml de agua y agregar al erlenmeyer 30,0 ml de ácido sulfúrico 0,1 N. Transferir el contenido del erlenmeyer a un vaso de precipitados de 400 ml. Lavar el erlenmeyer con dos porciones de 50 ml de una solución de sulfato de sodio anhidro al 20 % y tres porciones de 20 ml de agua. Agregar todos los lavados al vaso de precipitados que contiene la solución inicial. Titular el exceso de ácido sulfúrico con hidróxido de sodio 0,1 N, determinando el punto final potenciométricamente (ver 780. *Volumetría*). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido sulfúrico 0,1 N es equivalente a 8,609 mg de acetato de vinilo.

Envases plásticos estériles para sangre humana o hemoderivados

Los envases plásticos para la recolección, almacenamiento, procesamiento y administración de sangre humana y hemoderivados se fabrican de uno

o más polímeros y, si el caso así lo requiere, con aditivos permitidos. En condiciones normales de uso, los materiales no deben liberar monómeros u otras sustancias, en cantidades que puedan ser nocivas o causen modificaciones anormales a la sangre.

Los envases pueden contener soluciones anticoagulantes.

Cada envase está equipado con accesorios apropiados para facilitar su uso. El envase puede estar constituido por una unidad o estar conectado por uno o más tubos a uno o más envases complementarios para permitir la separación de los componentes sanguíneos en un sistema cerrado.

A menos que se especifique de otro modo en *Envases plásticos estériles para sangre humana y hemoderivados*, los materiales de los envases deben cumplir con los requisitos para *Poli (cloruro de vinilo) plastificado para envases destinados a soluciones acuosas para perfusión intravenosa*.

CARACTERÍSTICAS

El envase debe ser suficientemente transparente para permitir un examen visual apropiado de su contenido antes y después de ser llenado con sangre y debe ser suficientemente flexible para ofrecer una mínima resistencia durante el llenado y vaciado bajo condiciones normales de uso. El envase no debe contener más de 5 ml de aire.

ENSAYOS

Solución S₁- Llenar el envase con 100 ml de Solución fisiológica libre de pirogenos (SR) estéril. Cerrar el envase y calentarlo en autoclave, manteniendo la temperatura a 110 °C durante 30 minutos.

Si el envase a ensayar contiene una solución anticoagulante, vaciarlo previamente, y lavarlo con 250 ml de *Agua para Inyectables* a 20 ± 1 °C en varias porciones, descartando los lavados.

Solución S₂ - Introducir en el envase un volumen de *Agua para Inyectables* igual al volumen de solución de anticoagulante. Cerrar el envase y calentarlo en autoclave manteniendo la temperatura a 110 °C durante 30 minutos. Enfriar, agregar suficiente cantidad de *Agua para Inyectables* como para llenar el envase hasta su capacidad nominal.

Si el envase a ensayar contiene una solución anticoagulante, vaciarlo previamente y lavarlo según se indicó anteriormente para la *Solución S₁*.

Resistencia a variaciones de temperatura - Colocar el envase en una cámara apropiada la cual posee una temperatura inicial entre 20 y 23 °C. Enfriarlo rápidamente a una temperatura de - 80 °C y mantenerlo a esa temperatura durante 24 horas. Elevar la temperatura a 50 °C y mantenerla durante 12 horas. Dejar enfriar a temperatura ambiente. El

envase deberá cumplir con los ensayos para la *Resistencia a la centrifugación*, *Resistencia al estiramiento*, *Fuga*, *Permeabilidad al vapor de agua*, *Vaciado bajo presión* y *Velocidad de llenado*, siguiendo las técnicas descriptas en este capítulo.

Resistencia a la centrifugación -

Solución indicadora - Disolver, con calentamiento suave, 50 mg de azul de bromofenol en 3,73 ml de hidróxido de sodio 0,02 M y diluir a 100 ml con agua. -

Procedimiento - Introducir en el envase un volumen de agua acidificada, por el agregado de 1 ml de solución de ácido clorhídrico diluido, en cantidad suficiente para alcanzar su capacidad nominal. Envolver el envase con un papel absorbente impregnado con *Solución indicadora* diluida 1 en 5. Secar y centrifugar durante 10 minutos a 5.000 g. No se debe producir ninguna fuga, revelada por el papel indicador, ni ninguna distorsión permanente.

Resistencia al estiramiento - Introducir en el envase un volumen de agua acidificada por el agregado de 1 ml de solución de ácido clorhídrico diluido, en suficiente cantidad para alcanzar su capacidad nominal. Suspender el envase por el dispositivo de sujeción desde el extremo opuesto al tubo de salida, aplicar a lo largo del eje del tubo una fuerza de 20 N (2,05 kgf). Mantener la tracción durante 5 segundos. Repetir el ensayo aplicando la fuerza a cada una de las partes que se emplean para llenar y vaciar el envase. No deberá producirse rotura o deterioro apreciable.

Ensayo de fuga - Colocar el envase, que se ha sometido al ensayo de *Resistencia al estiramiento*, entre dos placas recubiertas con papel absorbente impregnado con *Solución indicadora* diluida 1 en 5, empleada en el ensayo de *Resistencia a la centrifugación* y secar. Aplicar, progresivamente, una fuerza a las placas de forma que la presión interna del envase alcance 67 kPa en el término de 1 minuto. Mantener la presión durante 10 minutos. No se debe percibir ninguna señal de fuga sobre el papel indicador.

Permeabilidad al vapor de agua - Para envases que contienen solución anticoagulante, llenar con un volumen de Solución fisiológica (SR), similar a la cantidad de sangre a contener.

Para el caso de los envases vacíos, llenar con la mezcla de solución de anticoagulante indicada y Solución fisiológica (SR). Cerrar el envase, pesarlo y almacenarlo a 5 ± 1 °C en una atmósfera con una humedad relativa de 50 ± 5 % durante 21 días. Al final de este período la pérdida de peso no deber ser mayor de 1 %.

Vaciado bajo presión - Llenar el envase con un volumen de agua a 5 ± 1 °C, equivalente a su capacidad nominal. Adosar a uno de los conectores, un equipo de transfusión sin cánula intravenosa. Comprimir el envase de manera tal que durante el vaciado se mantenga una presión interna de 40 kPa. El envase se debe vaciar en menos de 2 minutos.

Velocidad de llenado - Conectar el envase, por intermedio del tubo de transferencia con su correspondiente aguja a un depósito que contiene una cantidad apropiada de una solución con una viscosidad similar a la de la sangre, como por ej., una solución de sacarosa con una concentración de 335 g/l a 37 °C. Mantener la presión interna del depósito a 9,3 kPa, estando al mismo nivel la base del mismo y la parte superior del envase. El volumen de líquido que fluye dentro del envase en 8 minutos no debe ser menor que la capacidad nominal del envase.

Transparencia -

Solución de sulfato de hidracina - Disolver 1,0 g de sulfato de hidracina en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Dejar reposar durante 4 a 6 horas.

Solución de hexametilentetramina - Transferir 2,5 g de hexametilentetramina a un matraz de 100 ml con tapón esmerilado. Agregar 25 ml de agua y disolver.

Suspensión opalescente primaria - Agregar a la *Solución de hexametilentetramina* contenida en el matraz, 25 ml de *Solución de sulfato de hidracina*. Mezclar y dejar reposar durante 24 horas. Esta suspensión es estable durante 2 meses cuando se la almacena en envases de una superficie interna perfectamente lisa. La suspensión no debe adherirse y debe agitarse cuidadosamente antes de ser empleada.

Procedimiento - Introducir al envase vacío un volumen, equivalente a su capacidad nominal, de la *Suspensión opalescente primaria* diluida de manera de obtener una absorbancia de 0,37 a 0,43 a 640 nm (el factor de dilución es de 1 en 16). La turbidez de la suspensión debe ser perceptible cuando se observa a través del envase, en comparación con un envase de similares características lleno de agua en las mismas condiciones.

Efectos hemolíticos en sistemas de pH regulado - (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*).

Solución reguladora madre - Disolver 90,0 g de cloruro de sodio, 34,6 g de fosfato dibásico de sodio y 2,43 g de fosfato monobásico de sodio en agua y diluir a 1 litro con el mismo solvente.

Solución reguladora A₀ - A 30,0 ml de la *Solución reguladora madre* agregar 10,0 ml de agua.

Solución reguladora B₀- A 30,0 ml de la *Solución reguladora madre* agregar 20,0 ml de agua.

Solución reguladora C₀ - A 15,0 ml de la *Solución reguladora madre* agregar 85,0 ml de agua.

Solución A₁ - Mezclar 3,0 ml de *Solución reguladora A₀* y 12,0 ml de agua.

Solución B₁ - Mezclar 4,0 ml de *Solución reguladora-B₀* y 11,0 ml de agua.

Solución C₁ - Mezclar 4,75 ml de *Solución reguladora C₀* y 10,25 ml de agua.

Procedimiento - Transferir 1,4 ml de la *Solución S₂* a cada uno de tres tubos de centrifuga. Al tubo I agregarle 0,1 ml de *Solución reguladora A₀*, al tubo II agregarle 0,1 ml de *Solución reguladora B₀* y al tubo III agregarle 0,1 ml de *Solución reguladora C₀*. Agregar a cada tubo 0,02 ml de sangre humana fresca heparinizada, mezclar bien y calentar en un baño de agua a 30 ± 1 °C durante 40 minutos. Emplear sangre recolectada 3 horas antes como máximo o sangre recolectada con solución anticoagulante de citrato-fosfato-dextrosa 24 horas antes como máximo.

A los tubos I, II y III agregar 1,5 ml de *Solución A₁*, *Solución B₁* y *Solución C₁*, respectivamente. Al mismo tiempo y de la misma manera, preparar otros tres tubos, reemplazando *Solución S₂* por agua, estos tubos servirán como control. Centrifugar simultáneamente los tubos a ensayar y los de control a exactamente 2500 g en la misma centrifuga horizontal durante 5 minutos. Determinar las absorbancias, con un espectrofotómetro apropiado, en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de 540 nm, empleando la *Solución reguladora madre* como blanco. Calcular el porcentaje de hemólisis por la fórmula siguiente:

$$\frac{A_{\text{exp}}}{A_{100}} 100$$

en la cuál A_{100} , es la absorbancia del tubo III y A_{exp} son las absorbancias de los tubo I ó II, o las correspondientes a los tubos controles.

La solución en el tubo I debe dar un porcentaje de hemólisis no mayor a 10 % y el porcentaje de hemólisis de la solución en el tubo II no debe diferir en más de 10 % al del tubo control correspondiente.

Esterilidad <370> - Introducir asépticamente en el envase 100 ml de *Solución fisiológica (SR)* estéril y agitar el envase para asegurar que la superficie interna se moje completamente. Filtrar el contenido del envase a través de un filtro de membrana y colocar la membrana en un medio de cultivo apropiado. Los envases deben cumplir con el ensayo de esterilidad.

Piretógenos <340> - Inyectar 10 ml de la *Solución S₁* por cada kg de peso del conejo. La *Solución S₁* debe cumplir con los requisitos establecidos.

Reactividad biológica <380> - Realizar el ensayo según se indica en 380. *Ensayo de reactividad biológica in vitro.*

Acondicionamiento -

Los envases están contenidos en sobres protectores. Al separarse el envase de su sobre protector, el mismo no debe evidenciar fugas ni crecimiento de microorganismos. El sobre protector debe ser suficientemente resistente para soportar la manipulación normal.

El sobre protector debe estar sellado de tal manera que no pueda abrirse y cerrarse nuevamente sin evidenciar la rotura del mismo.

Rotulado - Debe cumplir con las normas vigentes.

Envases plásticos vacíos estériles de poli(cloruro de vinilo) plastificado para sangre humana o hemoderivados

ENSAYOS

Deberán cumplir con los ensayos para *Envases plásticos estériles para sangre humana o hemoderivados* y con los siguientes ensayos para detectar materia extraíble.

Solución de referencia - Transferir *Agua para Inyectables* a un erlenmeyer de vidrio al borosilicato y calentar en autoclave a 110 °C durante 30 minutos.

Sustancias reductoras - Inmediatamente después de la preparación de la *Solución S₂*, transferir al erlenmeyer al borosilicato una cantidad correspondiente al 8 % de la capacidad nominal del envase. Simultáneamente preparar un blanco empleando un volumen igual de la *Solución de referencia* recientemente preparada en otro erlenmeyer de vidrio al borosilicato. A cada solución agregar 20,0 ml de permanganato de potasio 0,002 M y 1 ml de ácido sulfúrico diluido. Dejar reposar durante 15 minutos protegido de la luz.

A cada solución agregar 0,1 g de yoduro de potasio. Dejar reposar durante 5 minutos protegido de la luz y titular inmediatamente con tiosulfato de sodio 0,01 N, empleando 0,25 ml de almidón (SR) como indicador. La diferencia entre las dos titulaciones no debe ser mayor de 2,0 ml.

Acidez o alcalinidad - A un volumen de *Solución S₂*, equivalente al 4 % de la capacidad nominal del envase, agregarle 0,1 ml de fenoftaleína (SR). La solución permanece incolora. Agregar 0,4 ml de una solución de hidróxido de sodio 0,01 M. La

solución toma color rosado. Agregar 0,8 ml de ácido clorhídrico 0,01 M y 0,1 ml de rojo de metilo (SR 1). La solución se torna de color anaranjado rojizo o rojo.

Cloruro -

Solución de cloruro de sodio - Disolver en agua una cantidad de cloruro de sodio, equivalente a 0,824 g de ClNa, y diluir a 1 litro con el mismo solvente. Diluir 1 ml de esta solución a 100 con agua inmediatamente antes de usar (5 ppm de Cl).

Procedimiento - A 15 ml de *Solución S₂* agregar 1 ml de ácido nítrico diluido y volcar la mezcla de una sola vez en un tubo de Nessler que contenga 1 ml de nitrato de plata (SR). Luego de dejar en reposo esta solución durante 5 minutos protegido de la luz, no debe presentar una turbidez mayor que la de una solución preparada simultáneamente, mezclando 1,2 ml de *Solución de cloruro de sodio* con 13,8 ml de agua (0,4 ppm).

Amonio -

Solución alcalina de tetraiodoniercurato de potasio - Disolver 11 g de ioduro de potasio y 15 g de ioduro de mercurio (II) en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Mezclar extemporáneamente 1 volumen de esta solución y 1 volumen de solución de hidróxido de sodio de 250 g/l.

Solución de amonio - Disolver en agua una cantidad de cloruro de amonio, equivalente a 741 mg de NH₄Cl, y diluir a 1 litro con el mismo solvente. Diluir 1 ml de esta solución a 100 con agua. Tomar 2 volúmenes de la solución anterior y diluir a 5 volúmenes con agua inmediatamente antes de usar (1 ppm de NH₄).

Solución diluida de hidróxido de sodio - Disolver 8,5 g de hidróxido de sodio en agua y diluir a 100 ml con agua.

Procedimiento - Diluir 5 ml de *Solución S₂* a 14 ml con agua, alcalinizar si es necesario con *Solución diluida de hidróxido de sodio* y diluir a 15 ml con agua. Agregar 0,3 ml de *Solución alcalina de tetraiodomercurato de potasio*. Después de 5 minutos, el color amarillo no debe ser más intenso que el producido por una solución obtenida mezclando 10 ml de *Solución de amonio* con 5 ml de agua y 0,3 ml de *Solución alcalina de tetraiodomercurato de potasio*. (2 ppm).

Residuo por evaporación - Evaporar a sequedad 100 ml de *Solución S₂* en un vaso de precipitados de vidrio al borosilicato, previamente calentada a 105 °C. Evaporar a sequedad, en las mismas condiciones 100 ml de la *Solución de referencia*. Secar hasta peso constante entre 100 y 105 °C. El residuo de la *Solución S₂* no debe pesar más de 3 mg, comparado con la *Solución de referencia*.

Absorbancia - Determinar la absorbancia de la *Solución S₂* a longitudes de onda entre 230 a 360 nm, empleando la *Solución de referencia* como blanco. A longitudes de onda entre 230 y 250 nm, la absorbancia no debe ser mayor de 0,30. A longitudes de onda entre 251 y 360 nm, la absorbancia no debe ser mayor de 0,10.

Ftalato de bis(2-etilhexilo) extraíble -

Solvente de extracción - Emplear alcohol diluido con agua con una densidad relativa entre 0,9389 y 0,9395 (ver 160. *Determinación de la densidad relativa*).

Solución madre del estándar - Disolver 100 mg de ftalato de bis(2-etilhexilo) en *Solvente de extracción* y diluir a 100,0 ml con el mismo solvente.

Soluciones estándar - Transferir 20,0; 10,0; 5,0; 2,0 y 1,0 ml de *Solución madre del estándar* a sendos matraces aforados de 100 ml y diluir a volumen con *Solvente de extracción* para obtener las *Soluciones estándar A, B, C, D y E*, respectivamente.

Determinar las absorbancias; con un espectrofotómetro apropiado, de las *Soluciones estándar* a la longitud de 272 nm, empleando *Solvente de extracción* como blanco. Trazar una recta de absorbancia en función de la concentración de ftalato de bis(2-etilhexilo).

Procedimiento de extracción - Mediante el empleo del adaptador correspondiente, llenar el envase vacío con un volumen de *Solvente de extracción* previamente calentado a 37 °C, igual a la mitad del volumen nominal. Expulsar el aire completamente del envase y sellar el tubo de salida. Sumergir el envase lleno en posición horizontal en un baño de agua a 37 ± 1 °C durante 60 ± 1 minuto sin agitar. Retirar el envase del baño de agua, invertirlo suavemente 10 veces y transferir el contenido a un matraz. Inmediatamente medir la absorbancia a 272 nm, empleando *Solvente de extracción* como blanco.

Determinar la concentración de ftalato de bis(2-etilhexilo), en mg por cada 100 ml de extracto, a partir de la recta de calibración.

La concentración no debe exceder:

- 10 mg por cada 100 ml para envases cuyo volumen nominal sea mayor o igual de 300 ml, pero menor de 500 ml;

- 13 mg por cada 100 ml para envases cuyo volumen nominal sea mayor de 150 ml, pero menor de 300 ml;

- 14 mg por cada 100 ml para envases cuyo volumen nominal sea menor o igual 150 ml.

Acondicionamiento y rotulado - Ver *Envases plásticos estériles para sangre humana o hemoderivados*.

Envases plásticos estériles de poli(cloruro de vinilo) plastificado para sangre humana que contienen solución, anticoagulante.

Los envases plásticos estériles de poli(cloruro de vinilo) para sangre humana que contienen una solución anticoagulante o soluciones conservadoras deberán cumplir con las monografías correspondientes. Estos envases se emplean para la recolección, almacenamiento y administración de sangre. Antes de ser llenados deberán cumplir con la descripción y características dadas en *Envases plásticos vacíos estériles de poli(cloruro de vinilo) plastificado para sangre humana o hemoderivados*.

A menos que se especifique de otro modo en *Envases plásticos estériles para sangre humana o hemoderivados*, la naturaleza y composición de los materiales de los envases deben cumplir con los requisitos para *Poli(cloruro de vinilo) plastificado para envases destinados a sangre humana o hemoderivados* y para *envases destinados a soluciones acuosas para perfusión intravenosa*.

ENSAYOS

Los envases deben cumplir con los ensayos para *Envases plásticos estériles para sangre humana o hemoderivados* y con los siguientes ensayos para medir el volumen de solución anticoagulante y para detectar materia extraíble.

Volumen de solución anticoagulante - Transferir completamente el contenido del envase a una probeta. El volumen no debe diferir en más de $\pm 10\%$ del volumen declarado.

Absorbancia - Determinar la absorbancia de la solución anticoagulante, extraída del envase, entre 250 y 350 nm, empleando como blanco una solución anticoagulante de la misma composición que no ha estado en contacto con el material plástico. La absorbancia, a la longitud de 280 nm, no debe ser mayor de 0,5.

Ftalato de bis(2-etilhexilo) extraíble - Retirar cuidadosamente la solución anticoagulante por medio del tubo de transferencia empleando un embudo adaptado a dicho tubo, llenar completamente el envase con agua, dejar en contacto durante 1 minuto, y presionar suavemente el envase. Después vaciarlo completamente y repetir el lavado. El envase vacío y lavado debe cumplir con el ensayo *Ftalato de bis(2-etilhexilo)* extraíble descrito en *Envases plásticos vacíos estériles de poli(cloruro de vinilo) para sangre humana o hemoderivados*.

Acondicionamiento y rotulado - Ver *Envases plásticos estériles para sangre humana o hemoderivados*.

Envases plásticos para soluciones acuosas para perfusión intravenosa

Los envases plásticos destinados a soluciones acuosas para perfusión intravenosa deben cumplir con los siguientes ensayos.

ENSAYOS

Solución S - Llenar un envase hasta su capacidad nominal con agua y taponarlo. Colocar el envase en un autoclave a una temperatura de 121 °C, durante 30 minutos. Si el calentamiento a 121 °C produce el deterioro del envase, calentar a 100 °C durante 2 horas. Emplear la solución, dentro de las 4 horas de preparada.

Blanco - Preparar un blanco calentando agua en un erlenmeyer de vidrio al borosilicato tapado, a la temperatura y por el tiempo empleado para la preparación de la *Solución S*.

Aspecto de la solución S - Debe ser transparente e incolora.

Acidez o alcalinidad - A un volumen de *Solución S* correspondiente al 4 % de la capacidad nominal del envase agregar 0,1 ml de fenoltaleína (SR). La solución debe ser incolora. Agregar 0,4 ml de hidróxido de sodio 0,01 M. La solución debe tomar una coloración rosa. Agregar 0,8 ml de ácido clorhídrico 0,01 M y 0,1 ml de rojo de metilo (SR 1). La solución debe ser de color anaranjado rojizo o rojo.

Absorbancia - Determinar la absorbancia de la *Solución S* entre 230 y 360 nm, no debe ser mayor de 0,20.

Sustancias reductoras - A 20,0 ml de *Solución S* agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido y 20,0 ml de solución de permanganato de potasio 0,002 M. Calentar a ebullición durante 3 minutos y enfriar inmediatamente. Agregar 1 g de yoduro de potasio y titular inmediatamente con tiosulfato de sodio 0,01 N, empleando 0,25 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. La diferencia entre los volúmenes de titulación no debe ser mayor de 1,5 ml.

Transparencia -

Solución de sulfato de hidracina - Disolver 1,0 g de sulfato de hidracina en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Dejar reposar durante 4 a 6 horas.

Solución de hexametilentetramina - Transferir 2,5 g de hexametilentetramina a un matraz de 100 ml con tapón esmerilado. Agregar 25 ml de agua y disolver.

Suspensión opalescente primaria - Agregar a la *Solución de hexametilentetramina* contenida en el matraz, 25 ml de *Solución de sulfato de hidracina*. Mezclar y dejar reposar durante 24 horas. Esta

suspensión es estable durante 2 meses cuando se la almacena en envases de vidrio de superficies internas lisas. La suspensión no debe adherirse y debe mezclarse cuidadosamente antes de ser empleada.

Procedimiento - Llenar el envase empleado anteriormente para la preparación de la *Solución S*, con un volumen de *Suspensión opalescente primaria*, igual a la capacidad nominal del envase, diluida 1 en 200 para un envase de polietileno o polipropileno y 1 en 400 para otros tipos de envases. La opalescencia de la suspensión debe ser perceptible cuando se observa a través del envase, en comparación con un envase de similares características lleno en las mismas condiciones pero con agua.

Acondicionamiento - El envase deberá ser acondicionado en un sobre protector.

Rotulado - Debe cumplir con las normas vigentes.

435. ENVASES PARA PRODUCTOS MÉDICOS ESTÉRILES

En este capítulo se describen los requisitos y métodos de ensayos que deben reunir los materiales y sistemas de envases para ser utilizados como empaque primario en productos médicos que serán sometidos a esterilización terminal y destinados a mantener la esterilidad del producto.

Los materiales empleados para envases de productos médicos se clasifican en:

Materiales porosos: papel en bobinas, resmas, bolsas o componentes de bolsas mixtas termosellables, papel con recubrimiento adhesivo para paquetes termosellables.

Materiales no porosos: telas no tejidas de poliolefinas con o sin recubrimiento adhesivo para bolsas mixtas, film de polietileno, film de polipropileno orientado, laminados de poliolefinas y poliéster, laminas de PET (polietilentereftalato) y PVC para termoformar.

Las materias primas utilizadas en los materiales de embalaje pueden ser vírgenes o recicladas siempre que cumplan con los ensayos descriptos y se conozca su trazabilidad.

Los adhesivos utilizados no deben mostrar reacción, contaminar, transferirse o afectar al producto envasado, antes y después de la esterilización. No deben contener componentes tóxicos en cantidades suficientes como para causar daño a la salud.

La composición química y los ensayos de identificación y caracterización de los polímeros plásticos están descriptos en 420. *Envases primarios de plástico.*

Características generales

El envase del producto médico estéril debe ser tal que:

- Sea barrera microbiana.
- Sea barrera mecánica.
- No presente interacción con el producto médico que contiene.
- Adecuado para el método de esterilización aplicado.

A continuación se describen los ensayos para materiales porosos y no porosos que permiten el cumplimiento de las características generales.

Además se consideran los ensayos vinculados a la funcionalidad del envasado final conteniendo el producto médico estéril y el ensayo de envejecimiento acelerado para determinar la vida útil del envase.

ENSAYOS PARA MATERIALES

Determinación del gramaje

El gramaje es la masa por unidad de área de papel determinada por el método de ensayo normalizado. Se expresa en gramos por metro cuadrado (g.m^2).

La determinación del gramaje es aplicable a papel, papel con recubrimiento adhesivo y tela no tejida con y sin recubrimiento adhesivo.

La masa promedio de un metro cuadrado de papel acondicionado debe estar entre $\pm 5\%$ del valor nominal declarado por el fabricante.

La masa promedio de un metro cuadrado de papel con adhesivo debe estar entre $\pm 7,5\%$ del valor nominal declarado por el fabricante.

La masa promedio para tela no tejida sin recubrimiento adhesivo debe estar entre $\pm 7\%$ del valor nominal declarado por el fabricante.

La masa promedio para tela no tejida con recubrimiento adhesivo debe estar entre $\pm 15\%$ del valor nominal declarado por el fabricante.

Aparatos -

Dispositivo de corte: el dispositivo de corte deberá ser capaz de cortar repetidamente probetas cuya área se encuentre en un entorno de $\pm 1\%$ de un área conocida. Esto debe ser controlado frecuentemente por medición y siempre que se logre la exactitud mencionada anteriormente, el área promedio obtenida en estos controles debe ser utilizada para el cálculo del gramaje. Con ciertos papeles se encontrará, después de llevar a cabo esta determinación de área, que las probetas no pueden ser cortadas con la precisión anteriormente definida; en tales casos, el área de cada probeta deberá ser determinada individualmente.

Balanza: La balanza deberá ser lo suficientemente exacta, en el rango de utilización, para pesar dentro del $0,5\%$ de la masa real. Deberá ser lo suficientemente sensible como para detectar un cambio de $\pm 0,2\%$ de la masa a ser determinada y, si la balanza es del tipo de lectura directa, deberá estar graduada de manera tal que se puedan tomar lecturas con ese grado de precisión.

Se puede usar balanzas especiales para la determinación de gramaje, diseñadas para pesar probetas de un tamaño determinado e indicar directamente su gramaje, si se cumplen totalmente las condiciones antes detalladas y el área de cada probeta no es menor que 500 cm^2 y no mayor que 1.000 cm^2 .

Mientras está en uso, la balanza deberá ser protegida de las corrientes de aire.

Muestreo -

La selección de unidades y la toma de ejemplares de ensayo deberá ser lo más representativo posible. El número de ejemplares de ensayo empleado (por lo menos cinco) deberá ser suficiente para por lo menos 20 probetas.

Preparación de las muestras -

Las muestras deberán acondicionarse a una atmósfera de 23 ± 1 °C y 50 ± 2 % humedad relativa por el tiempo requerido para obtener estas condiciones. Se considera que se ha alcanzado el equilibrio en temperatura y humedad cuando dos pesadas consecutivas de la muestra, efectuadas en un intervalo de no menos de una hora no difieran en más de 0,25 % de la masa total.

Procedimiento -

Para la determinación de gramaje se preparan y se pesan las probetas en las mismas condiciones atmosféricas del acondicionamiento. Utilizando el *Dispositivo de corte*, se corta, de por lo menos 5 ejemplares de ensayo, un mínimo de 20 probetas; si es posible el mismo número de probetas de cada ejemplar de ensayo.

Siempre que sea posible cada probeta deberá tener un área de por lo menos 500 cm² y no más de 1.000 cm²; si es necesario, puede estar compuesta de varios trozos más pequeños.

Se determina el área de las probetas por cálculo a partir de las medidas tomadas, redondeando a 0,5 mm.

Se pesa cada probeta y se expresa las masas con tres cifras significativas.

Se calcula el gramaje g , en gramos por metro cuadrado, de cada probeta, por la fórmula siguiente:

$$g = 10.000(m/A)$$

en la cual m es la masa de la probeta, en gramos, y A es el área de la probeta, en cm².

Alternativamente se calcula el gramaje por la fórmula siguiente:

$$g = 10.000(m_{1/2}/\bar{A})$$

en la cual $m_{1/2}$ es la masa promedio de las probetas, en gramos, y \bar{A} es el área promedio de las probetas, en cm².

Si se ha usado una balanza diseñada para pesar probetas de un tamaño determinado, se utiliza la siguiente fórmula:

$$g = g_1(A_1/A)$$

en la cual g_1 es el gramaje indicado de la probeta, en gramos por metro cuadrado, A_1 es el área de la probeta para la cual está calibrada la balanza, en cm², A es el área de la probeta pesada, en cm².

Se calcula el promedio de los resultados y la desviación estándar y se expresan con tres cifras significativas.

Determinación del pH

La determinación del pH (ver 250. *Determinación del pH*) es aplicable a papel y papel con recubrimiento adhesivo.

El pH de un extracto acuoso del papel debe estar comprendido entre 5 y 8.

Principio -

Se extrae una muestra de 2 gramos de material durante 1 hora con 100 ml de agua destilada fría e hirviendo y se mide el pH del extracto.

Reactivos -

Agua destilada o desionizada. La conductividad no debe exceder 0,1 mS/m después de hervir y enfriarse.

Soluciones reguladoras patrón, con valor de pH tal como 4; 6,9 y 9,2.

Muestreo -

Lo selección de unidades y la toma de muestra deberá ser lo más representativo posible.

Preparación de la muestra -

Se corta o rasga la muestra en trozos aproximados de 5 mm × 5 mm, porciones que no hayan sido tocadas por manos descubiertas y asegurándose que las muestras se coloquen solo sobre superficies limpias.

Se mezclan los trozos completamente. Las muestras preparadas se guardan en recipientes limpios y tapados.

Preparación del extracto acuoso: se pesan $2 \pm 0,1$ g, en base a la sustancia seca, de muestra para realizar el *Extracto en caliente* y la misma cantidad para el *Extracto en frío*.

Extracción en caliente: se colocan 100 ml de agua destilada en un frasco con condensador de reflujo y se calienta hasta la temperatura de ebullición. Se desensambla el condensador y el agua casi hirviendo se trasvasa a otro frasco para condensador de reflujo que contiene los trozos de muestra. Se adapta el condensador y se hierve durante 1 hora a fuego moderado. Se permite el enfriamiento rápido hasta temperatura entre 20 y 25 °C con el condensador colocado. Se espera la decantación de las fibras y se trasvasa el extracto sobrenadante a un vaso pequeño. La muestra se realiza por duplicado.

Extracción en frío: se colocan 100 ml de agua destilada en un frasco esmerilado con tapón de vidrio y se agregan los trozos de la muestra. Se tapa el frasco y se deja reposar durante 1 hora entre 20 y 25 °C, agitando por lo menos una vez durante

este tiempo. Se espera la decantación de las fibras y se trasvasa el extracto sobrenadante a un vaso pequeño. La muestra se realiza por duplicado.

Medición del pH -

Se realiza la medición de pH de los extractivos realizados en frío y en caliente. Se expresa el pH como el promedio de las dos determinaciones redondeando a 0,1 unidad. Los resultados individuales no deben diferir en más de 0,2 unidades. Si esto ocurre se repiten las determinaciones y se informa el promedio y rango de todas las medidas.

Determinación del color

La determinación de color es aplicable a papel, papel con recubrimiento adhesivo, tela no tejida con o sin recubrimiento.

El color no se debe lixiviar cuando se realice el extracto acuoso en frío y en caliente de igual forma que para la determinación de pH.

Determinación de cloruros y sulfatos

La determinación de cloruros y sulfatos es aplicable a papel y papel con recubrimiento adhesivo.

El contenido de cloruros como cloruro de sodio no debe exceder el 0,05 %.

El contenido de sulfato como sulfato de sodio no debe exceder el 0,25 %.

Preparación de la muestra -

Se pesan entre 2 y 5 g de muestra, se corta en trozos aproximados de 5 mm × 5 mm.

Procedimiento -

Se transfiere la muestra a un desintegrador y se agregan 250 ± 2 ml de agua destilada a 23 ± 2 °C. Se procede a la acción del desintegrador durante 2 horas.

Se retira una alícuota de la suspensión con una jeringa con filtro de 0,2 µm para prevenir el arrastre de fibras. Es esencial que la alícuota esté libre de material suspendido.

Sobre la alícuota se determina cloruros como ion Cloruro y sulfatos como ion sulfato por cromatografía iónica.

Determinación de la fluorescencia

La determinación de la fluorescencia es aplicable a papel y papel con recubrimiento adhesivo.

Aparatos -

Fuente de radiación ultravioleta, que produzca un pico a 366 nm. La salida luminosa de la lámpara debe ser tal que se obtenga la iluminación requerida de la superficie de la probeta acondicionada.

Preparación de la muestra -

Se corta un trozo del papel en ensayo de 100 mm × 10 mm y se acondiciona de igual forma que para el ensayo de *Determinación del gramaje* a 23 ± 1 °C y 50 ± 2 % de humedad relativa por el tiempo requerido.

Procedimiento -

Se enciende la lámpara y se deja hasta que desarrolle su rendimiento completo. Se ajusta la distancia entre la lámpara y la superficie de la probeta de ensayo de manera tal que la radiación ultravioleta incidente sobre la superficie de la probeta de ensayo sea 300 ± 20 µW/cm².

Se observa el aspecto general de la probeta y la presencia de manchas fluorescentes.

El papel con o sin recubrimiento adhesivo no debe tener más de cinco focos de fluorescencia, cada uno con un eje mayor a 1 mm/dm².

Determinación de la resistencia al estallido en húmedo y en seco

La resistencia al estallido es la máxima presión uniformemente distribuida, aplicada en ángulo recto a su superficie, que una hoja de papel puede soportar bajo las condiciones de ensayo.

La determinación de la resistencia al estallido en húmedo es aplicable a papel y papel con recubrimiento adhesivo.

En seco es aplicable además a tela no tejida con o sin recubrimiento adhesivo.

Para papel, la resistencia en seco no debe ser menor a 230 kPa y en húmedo 35 kPa, empleando un tiempo de inmersión de 10 minutos.

Para papel para la fabricación de paquetes para uso médico que deben ser esterilizados con óxido de etileno o radiación y papel con recubrimiento adhesivo: en seco 200 kPa y en húmedo 35 kPa, con tiempo de inmersión de 10 minutos.

Si será sometido a radiación no es aplicable la resistencia en húmedo.

Principio -

El ensayo consiste en colocar una probeta de ensayo sobre un diafragma circular elástico, se la amordaza rígidamente en el perímetro, pero dejándola curvarse sobre el diafragma. Se bombea fluido hidráulico a velocidad constante, expandiendo el diafragma hasta que la hoja se rompa. La resistencia al estallido de la probeta es el valor máximo de la presión hidráulica aplicada.

Aparatos -

Diafragma: circular, de material elástico, amordazado firmemente con su superficie superior aproximadamente 3,5 mm por debajo del plano superior del elemento de fijación inferior. El material y la construcción del diafragma deberán

ser tales que la presión requerida para expandir al diafragma 9 mm por sobre la superficie superior del elemento de fijación inferior sea de 30 ± 10 kPa.

Sistema de amordazado: para sostener la probeta, firme e uniformemente entre dos superficies anulares planas, que deberán ser suaves (pero no pulidas) y acanaladas. Se debe asegurar que la presión de amordazado esté distribuida en forma pareja. La presión de amordazado deberá ser suficiente para evitar el deslizamiento durante el ensayo, pero no demasiado grande como para dañar la probeta. Normalmente no debe ser menor a 430 kPa.

Sistema hidráulico: para aplicar una presión hidráulica controlada en el lado inferior del diafragma hasta que se produzca el estallido de la probeta. No deberá haber burbujas de aire en el sistema hidráulico ni en el líquido utilizado. La velocidad de bombeo deberá ser de 95 ± 15 ml por min.

Manómetro: tipo Bourdon con indicador de lectura máxima de capacidad adecuada o un transductor de presión calibrado y un registrador de presión con una precisión de 0,2 %.

Preparación de las muestras -

Las probetas de ensayo deberán tener un área mayor que la de las mordazas del aparato y ninguna parte cubierta por las mordazas en un ensayo podrá ser incluida en áreas de ensayo subsiguientes. Las probetas no deben incluir áreas que contengan marcas de agua, pliegues, o daño visible. Deben ser acondicionadas a 23 ± 1 °C y 50 ± 2 % de humedad relativa durante 24 horas.

Procedimiento -

Los ensayos se deberán realizar en la atmósfera normalizada, usada para acondicionar las probetas.

Se levanta la mordaza y se coloca la probeta en una posición que permita usar toda la superficie de amordazado. Luego se aplica la mordaza firmemente sobre la probeta aplicando la presión especificada. Se aplica la presión hidráulica a la velocidad establecida hasta que se produzca el estallido de la probeta. Se lee y registra la presión indicada en el manómetro con tres cifras significativas. Se deberán descartar las lecturas cuando haya ocurrido deslizamiento apreciable de la probeta o cuando el tipo de falla indica que la probeta fue dañada por una presión excesiva o por la rotación de las mordazas durante el amordazamiento.

Si la lectura fuera menor a 70 kPa, se ensaya un número mínimo de hojas simultáneamente para obtener una lectura superior a este valor. Las hojas deben estar dispuestas con uno de los lados (por ejemplo, lado fieltro) en contacto con el otro lado

(por ejemplo, lado tela) y las direcciones de máquina paralelas.

Resultados -

La resistencia al estallido P expresada en kPa, está dada por la fórmula siguiente:

$$P = B/N$$

en la cual B es el valor de la presión hidráulica máxima en kPa, N es el número de hojas ensayadas simultáneamente.

Para la determinación en húmedo se preparan las muestras como en seco, luego se sumergen 10 minutos en agua siguiendo el mismo procedimiento que para tracción en húmedo y luego se realiza la determinación de la resistencia al estallido.

Determinación de la resistencia a la tracción en húmedo y en seco

La resistencia a la tracción es la máxima fuerza de tracción por unidad de ancho que puede soportar el papel antes de romperse, bajo las condiciones definidas de ensayo.

La determinación de la resistencia a la tracción en húmedo y en seco es aplicable a papel, papel con recubrimiento adhesivo y tela no tejida con y sin recubrimiento.

Para papel, la resistencia a la tracción en seco no debe ser menor a 4,40 kN por metro en dirección de máquina y no menor a 2,20 kN por metro en dirección cruzada. En húmedo no debe ser menor a 0,90 kN por metro en dirección de máquina y 0,45 kN por metro en dirección cruzada.

Para papel para la fabricación de paquetes para uso médico que deben ser esterilizados con óxido de etileno o radiación y papel con recubrimiento adhesivo: la resistencia a la tracción en seco debe ser no menor a 4,0 kN por metro en dirección de máquina y 2,0 kN por metro en dirección cruzada. En húmedo, 0,80 kN por metro en dirección de máquina y 0,40 kN por metro en dirección cruzada.

Si el proceso al cual será sometido es radiación no se aplica el ensayo en húmedo.

Para tela no tejida sin o con recubrimiento solo se determina en seco y no debe ser menor a 5,0 kN por metro en dirección de máquina y cruzada.

Principio -

El ensayo consiste en estirar hasta su ruptura una probeta de dimensiones normalizadas a una velocidad de aplicación de carga constante, usando un aparato de ensayo de tracción que mida la fuerza y que registre la tracción máxima.

Aparatos -

Equipo para ensayo de tracción: diseñado para estirar una probeta de dimensiones patrones a una velocidad de aplicación de carga constante y para medir la fuerza de tracción. La velocidad de carga deberá ser ajustada de modo de lograr la ruptura de la probeta en 20 ± 5 segundos.

Equipo para medición de fuerza de tracción: con una precisión de ± 1 %.

Mordazas: para sostener las probetas.

Preparación de las muestras para la determinación en seco -

Las muestras se deberán acondicionar a 23 ± 1 °C y 50 ± 2 % de humedad relativa y las probetas se prepararán y ensayarán en las mismas condiciones.

Se preparan las probetas a partir de ejemplares tomados al azar. No deberán ser incluidas en el área de ensayo arrugas, grietas, o marcas de agua y las probetas no deberán incluir partes de la muestra comprendidas a 15 mm del borde de cualquier hoja o bobina.

Las probetas se cortan una por vez, se corta un número suficiente de probetas como para asegurar 10 resultados válidos obtenidos en cada dirección del papel, es decir en dirección de máquina y en dirección transversal. Los bordes largos de la probeta deberán ser perfectamente rectos, paralelos con una tolerancia de $\pm 0,1$ mm y sin rebordes.

Las dimensiones de las probetas deberán ser las siguientes: el ancho deberá ser 15 mm, 25 mm ó 50 mm, con tolerancia de $\pm 0,1$ mm. El largo deberá ser tal, que la probeta pueda ser colocada en las mordazas sin tocar con las manos la sección que va entre las mismas.

Preparación de las muestras para la determinación en húmedo -

Se preparan las muestras y las probetas igual que para la determinación en seco.

Luego se forma un anillo con la probeta, con la porción central hacia arriba y se sumerge la parte inferior del anillo en agua destilada a 23 ± 2 °C. Se mojan las probetas a saturación, normalmente esto significa un tiempo de inmersión de 1 hora. Luego de la inmersión se sacan las probetas del recipiente, levemente embebidos en agua, se les quita el agua en exceso y se las ensaya de igual forma que en seco.

Procedimiento -

Se ajusta el aparato de acuerdo a las recomendaciones del fabricante.

Se coloca la probeta en las mordazas, se alinea y ajusta la probeta. Se comienza el ensayo, continuando hasta que se rompa la probeta. Se

registra la máxima fuerza de tracción ejercida y el tiempo en que se llegó a la ruptura, redondeando a 1 segundo.

Se ensayan por lo menos diez probetas, cortadas en cada una de las direcciones del papel. Se registran todas las lecturas, excepto las de aquellas probetas que se rompan a menos de 10 mm de las mordazas.

Resultados -

Se calculan y expresan separadamente los resultados obtenidos en cada una de las direcciones del papel. Se calcula la resistencia a la tracción de las probetas, expresada en kN por metro a partir de la fórmula siguiente:

$$S = F/w$$

en la cual S es la fuerza de tracción en kN por metro, F es la fuerza de tracción promedio, en N, y w es el ancho de la probeta en milímetros.

El resultado se expresa con tres cifras significativas.

Determinación de la resistencia al desgarro o rasgado interno

La resistencia al desgarro es la fuerza necesaria para continuar el desgarro comenzado por un corte inicial, en una única hoja de papel. Si el corte se encuentra en dirección de máquina, o si se encuentra transversal a la dirección de máquina, el resultado se expresa indicando la condición.

La determinación de la resistencia al desgarro o rasgado interno es aplicable a papel, papel con recubrimiento adhesivo, tela no tejida con y sin recubrimiento.

Para papel, la resistencia al desgarro no debe ser menor a 550 mN en dirección de máquina y cruzada.

Para papel para la fabricación de paquetes para uso médico que deben ser esterilizados por óxido de etileno o radiación con y sin recubrimiento, debe ser no menor a 300 mN en ambas direcciones.

Tela no tejida con y sin recubrimiento, no menor a 1.000 mN en ambas direcciones.

Principio -

Una probeta conformada por hojas superpuestas, generalmente cuatro, es rasgada a una distancia fijada, usando un péndulo que aplica la fuerza de desgarro moviéndose en un plano perpendicular al plano inicial de la probeta.

El trabajo realizado al desgarrar la probeta se mide por la pérdida de energía potencial de péndulo. La fuerza de desgarro promedio es indicada por una escala ubicada en el péndulo, o por un indicador digital.

La resistencia al desgarro del papel se determina a partir de la fuerza promedio y de la cantidad de hojas que componen la probeta.

Aparatos -

Se utiliza un aparato para determinar la resistencia al desgarro, tipo Elmendorf, de capacidad adecuada para cumplir los requerimientos de ensayo, y masas crecientes o pendientes intercambiables para aumentar la fuerza en desgarro del aparato.

Medios para preparar la probeta, como por ejemplo, una guillotina.

Muestreo -

La selección de unidades y la toma de muestras deberá ser lo más representativa posible. Las muestras deben acondicionarse a una atmósfera de 23 ± 1 °C y 50 ± 2 % de humedad relativa.

Preparación de las muestras -

Se preparan las probetas en la misma atmósfera de acondicionamiento usada para las muestras. No deberá haber arrugas, pliegues u otros defectos visibles en el área de la que se cortará la probeta y ésta no deberá incluir partes de la muestra que se encuentren a menos de 15 mm del borde de la hoja o bobina.

Si en la probeta se encuentran marcas de agua, este hecho deberá ser establecido en el informe.

Se identifican las dos caras del papel. Con la misma cara hacia arriba, se corta de cada ejemplar de ensayo cuatro hojas rectangulares del mismo tamaño, entre 50 ± 2 mm y 76 ± 2 mm de ancho, con los bordes paralelos a la dirección de ensayo; y de un largo tal que después que se haya hecho el corte inicial, ya sea como parte de la preparación de la probeta o con la cuchilla integrada, el largo sin desgarrar sea $43,0 \pm 0,5$ mm.

Se agrupa las hojas cortadas en conjunto de cuatro para formar la probeta.

Alternativamente se agrupan cuatro ejemplares de ensayo con sus direcciones de máquina paralelas y con las caras colocadas de la misma forma, y se corta la probeta como se indica más arriba. El largo no desgarrado será el especificado más arriba.

Los bordes de la hoja que conformen la probeta deberán estar limpios.

Se corta una cantidad de probetas suficiente como para realizar un mínimo de diez ensayos válidos en cada dirección requerida del papel.

Procedimiento -

Se realizan los ensayos en la misma atmósfera de acondicionamiento utilizada para acondicionar las muestras.

Se ajusta y controla el equipo. Se medirán algunos pocos ensayos para seleccionar el péndulo

apropiado, o la combinación de péndulo-masa creciente a ser usadas. Es conveniente realizar el ajuste de modo que el promedio de las lecturas esté en un rango entre el 20 % y el 80 % del total de la escala de lectura.

Se realiza el ensayo en dirección de máquina y en dirección transversal.

Resultados -

Por cada dirección del papel ensayada se calcula el promedio de las lecturas de escala, y a partir de las siguientes fórmulas, la resistencia al desgarro:

$$F = F_1 p / n$$

en la cual F es la resistencia al desgarro en mN, F_1 es el promedio de las lecturas de escala en mN, p es la cantidad de hojas desgarradas simultáneamente, para la cual ha sido calibrada la escala del péndulo para dar una lectura directa de la resistencia al desgarro en mN y n es la cantidad de hojas desgarradas simultáneamente.

La dirección de desgarro puede desviarse de la dirección del corte inicial. Si la desviación promedio excede 10 mm en una o dos de los diez ensayos, se deberá descartar estos resultados y realizar ensayos posteriores para llevar el número de resultados satisfactorios a los diez requeridos. Si la desviación excede 10 mm en más de dos probetas, se deberá incluir estos resultados y registrar este hecho en el informe.

Si en lugar de desgarrarse de manera normal, el papel de cualquier probeta se delamina, presentando una banda ancha de papel delaminado, se debe aplicar el criterio del párrafo anterior a la línea central de la banda desgarrada a través de las probetas.

Si la resistencia al desgarro del papel, o el péndulo, o la combinación péndulo-masa creciente disponible no permite obtener resultados satisfactorios a partir de probetas hechas con cuatro hojas, se deberá utilizar más hojas y aclararlo en el informe.

Determinación de la repelencia al agua

La determinación de la repelencia al agua es aplicable a papel y papel con recubrimiento adhesivo.

Aparatos -

Fuente de luz ultravioleta, con los mismos requisitos que para determinación de fluorescencia.

Desecador.

Cronómetro.

Dosificador de polvo, con un extremo cerrado y el otro con tamiz con un tamaño de apertura nominal entre 0,125 mm y 0,150 mm.

Placa de petri, de aproximadamente 200 mm × 150 mm × 15 mm.

Termómetro de escala adecuada.

Reactivos -

Polvo indicador seco preparado según se describe a continuación: se muelen 20 g de sacarosa en un mortero y se pasa a través de un tamiz con un tamaño de apertura nominal entre 0,063 mm y 0,075 mm. Se seca la sacarosa tamizada en un desecador sobre silicagel o en una estufa regulada entre 105 °C y 110 °C. Se mezclan 10 g de sacarosa seca con 10 mg de fluoresceína sódica seca y se pasa la mezcla cinco veces por el tamiz de apertura nominal entre 0,063 mm y 0,075 mm. Finalmente, se transfiere el polvo indicador seco al dosificador de polvo. El polvo indicador seco en el dosificador se almacena en un desecador o en una estufa entre 105 °C y 110 °C, hasta su uso.

Procedimiento -

Se toman diez porciones de papel a ensayar, cada una de 60 mm × 60 mm, acondicionado a 23 ± 1 °C y 50 ± 2 % de humedad relativa.

Se separan las muestras en dos grupos de cinco, un grupo sobre una cara y el otro sobre la otra. A cada muestra se le hacen dos dobleces de 10 mm de altura y en ángulo recto a lo largo de los dos lados.

Se llena la placa de petri con agua purificada a la temperatura de acondicionamiento hasta una profundidad de 10 mm. Se enciende la lámpara ultravioleta y se deja estabilizar. Se ajusta la distancia de la lámpara de forma tal que la radiación sobre la superficie del agua sea de 300 ± 20 μ W por cm^2 .

Se esparce el polvo indicador sobre la superficie de la muestra hasta formar una película fina. Se deja flotar la muestra debajo de la lámpara ultravioleta y se observa el tiempo para que aparezca la fluorescencia generalizada. Se repite el procedimiento con las nueve porciones restantes.

La repelencia al agua del papel está influenciada considerablemente por la temperatura del agua, la cual se debe mantener entre los límites especificados, 23 ± 1 °C.

La repelencia al agua del papel y papel con recubrimiento adhesivo debe ser tal, que el tiempo de penetración no sea menor a 20 segundos.

Si el papel será de uso en esterilización por radiación no se aplica esta determinación.

Determinación del tamaño de poro

La determinación del tamaño de poro es aplicable a papel y papel con recubrimiento adhesivo.

Principio -

El método consiste en observar la presión requerida para forzar a las burbujas de aire a pasar por los intersticios (poros) de un material humedecido con un líquido o que tenga una película del mismo líquido aplicada en la parte superior de su superficie. La presión junto con la tensión superficial conocida del líquido son usadas para establecer el tamaño de los intersticios del material (poros).

Líquido de ensayo -

El líquido de ensayo debe permitir que el papel sea humedecido completamente, que tenga un bajo poder solvente de los materiales de ensayo, que no produzca hinchazón de las fibras, que tenga una tensión superficial constante, que no sea tóxico, con bajo nivel de inflamabilidad, exento de espuma y de costo moderado. Un líquido que reúne estas condiciones es el etanol.

Aparatos -

El equipo requerido para el ensayo se muestra en la *Figura 1*, y consta de las siguientes partes:

- 1) cabezal de ensayo (1) que consta de: un recipiente cilíndrico de un material apropiado (ejemplo bronce) sobre el cual la muestra "a" se pueda sujetar con un anillo o abrazadera "b" y un tornillo "c". El vaso se ajusta con un empaque de caucho sintético "d" de diámetro interno 50 mm para sellar la muestra.
- 2) Manómetro
- 3) Válvula de corte que sirve para dirigir el aire al cabezal de ensayo.
- 4) Una válvula reguladora de presión.
- 5) Una válvula de corte que dirige el aire al manómetro.
- 6) Depósito de aire de 2,5 litros de capacidad conectado a "1". Esto garantiza que la velocidad de flujo de aire, necesaria para mantener la elevación de la presión requerida, sea tal que la pérdida de aire a través del material, cuando comienza el burbujeo, no disminuya la velocidad de elevación de la presión.
- 7) Suministro de aire.

Usando el equipo representado en la *Figura 1*, se realiza el ensayo de la siguiente manera:

Se abren el suministro de aire y la válvula "3" para dirigir el aire al cabezal a través del recipiente "6" al mismo tiempo se ajusta la válvula "4" para graduar el gradiente de presión requerido. Se mantiene abierta la válvula "5" durante el ensayo. Cuando aparezcan las primeras burbujas en el

material que se está ensayando, se cierra “5” para permitir la lectura de presión en el manómetro “2”.

El equipo para la medición del tamaño de poro equivalente tendrá las siguientes características:

a) debe disponer de los medios adecuados para sujetar la muestra del material de forma que:

- esté horizontal.
- un área circular del material de 50 mm de diámetro será sometida a un incremento constante de presión por la cara inferior del material.
- que no haya fugas del líquido de ensayo.
- que la muestra no se desprenda de las abrazaderas.

b) La tasa de incremento de la presión de aire debe ser de 2,0 kPa por minuto a 2,5 kPa por minuto (220 mm a 250 mm de agua por minuto).

c) el manómetro conectado al cabezal de ensayo debe estar calibrado en kPa (o en mm de agua).

d) El manómetro debe tener un rango adecuado de medición de la presión.

[NOTA 1: las abrazaderas deben estar recubiertas con un material elástico que sea resistente al líquido de ensayo como por ejemplo caucho sintético.]

[NOTA 2: para la mayoría de los materiales se considera apropiado un manómetro que suministre una presión de hasta 6 kPa. Los equipos hasta 10 kPa se recomiendan para mediciones sobre materiales muy cerrados como por ejemplo indumentaria para áreas limpias, campos quirúrgicos.]

Preparación de las muestras -

Después de su recepción se debe manipular el material muy poco, no doblarlo, plancharlo ni someterlo a algún tratamiento diferente al acondicionamiento. Se deben cortar muestras del material de una forma adecuada para su manipulación y sujeción.

Se deben tomar las muestras de diferentes lugares del material evitando los pliegues, de forma que las muestras sean representativas de todo el material. Se recomienda cortar muestras del material de un tamaño de 75 mm × 75 mm.

A menos que se estipule lo contrario, se deben emplear diez especímenes de la muestra del material.

Procedimiento:

1) se realiza el ensayo en condiciones ambientales estandarizadas especificadas, 23 ± 1 °C y 50 ± 2 % de humedad relativa.

2) Se determina la tensión superficial del líquido de ensayo con algún

método apropiado con una precisión de 0,5 mN por metro.

3) Se sumergen aproximadamente 15 mm de la muestra dentro del líquido de ensayo en una placa de petri durante 3 minutos. Se retira la muestra con pinzas y se coloca en el cabezal de ensayo. Se vierten unos pocos ml del líquido de ensayo sobre la superficie del material en cantidad suficiente para cubrirlo completamente antes de someterlo a la presión de prueba. Se registra la temperatura del líquido de ensayo.

[NOTA: el material muy abierto se puede analizar más fácilmente si se permite que la presión del aire aumente sobre la parte posterior de la muestra antes de verter el líquido de ensayo para cubrir completamente la superficie del material.]

4) Después de aumentar la presión del aire aparecen burbujas en diferentes sitios sobre la parte superior de la superficie; se observa ésta permanentemente mientras se incrementa la presión. En el momento en que aparece la primera burbuja se registra el valor de la presión expresada en mm de columna de agua.

5) Se ensayan los demás especímenes hasta obtener el número de resultados requerido.

Resultados -

Cálculo y expresión de los resultados: se calcula el radio del poro R equivalente, en μm , de cada muestra por medio de la siguiente fórmula:

$$R = 20T/D.P.G$$

o la fórmula simplificada:

$$R = 204T/P$$

en la cual T es la tensión superficial del líquido de ensayo a la temperatura de análisis expresada en mN por metro; G es la aceleración de la gravedad en mm por s^2 ; D es la densidad del agua a la temperatura de ensayo, en mg por mm^3 y P es la presión de la burbuja, expresada en mm de agua.

Se calcula el radio promedio del poro y se expresa el resultado como diámetro del poro.

[NOTA 1: el error introducido al tomar D igual a 1 mg por mm^3 para la densidad relativa del agua a la temperatura de la atmósfera normalizada es pequeño comparado con la variabilidad de los resultados del ensayo.]

[NOTA 2: de forma similar, aunque se sabe que G varía alrededor del 0,5 % de lugar a lugar, el

error introducido al asumir un valor constante de 9.810 mm por s², es pequeño comparado con la variabilidad del ensayo.]

Desarrollo de la fórmula para el cálculo del radio del poro equivalente: para un tubo cilíndrico, la presión P expresada en Pascales, necesaria para forzar el líquido a través de él, está dada por la fórmula siguiente:

$$P = 2T\cos Q/R$$

en la cual T es la tensión superficial del líquido en N por metro; Q es ángulo de contacto en la interfase líquido-sólido-aire, expresado en grados; y R es el radio del tubo, en metros.

El ángulo de contacto es muy difícil de medir y por lo tanto se escoge un líquido que humedece completamente el material, por lo tanto el valor del $\cos Q$ sea 1 y la ecuación se convierte en la siguiente expresión:

$$P = 2T/R$$

Esta ecuación es la misma que la ecuación simplificada mencionada para la expresión del radio del poro.

La presión se mide normalmente en mm de columna de agua, debido a que se emplea un manómetro de agua o a que el manómetro ha sido calibrado en mm de columna de agua. Por lo tanto:

$$P = Pb.D.G$$

en la cual Pb es la presión equivalente a la columna de agua, en mm de columna de agua; D es la densidad del agua, en mg por mm³; G es la aceleración debida a la gravedad, en mm por s².

Para papel, el diámetro máximo equivalente al tamaño de poro no debe ser mayor a 50 micrones con un valor medio de 35 micrones.

Para papeles que se usarán para esterilización por óxido de etileno y radiación, con y sin recubrimiento adhesivo, el promedio de los diámetros de poro, debe ser menor o igual a 20 micrones y ninguno de los valores obtenidos debe ser mayor a 30 micrones.

Determinación de la permeabilidad al aire

La permeabilidad al aire está definida como el flujo medio de aire que pasa a través de una unidad de área sometida a una unidad de diferencia de presión, en una unidad de tiempo, en condiciones específicas. Utilizando el principio de medida conocido como GURLEY

La determinación de la permeabilidad al aire es aplicable a papel, papel con recubrimiento y tela no tejida con o sin recubrimiento.

Para papel no debe ser menor de 3,4 $\mu\text{m}/\text{Pa.s}$ con una presión de aire de 1,47 kPa.

Papel para ser utilizado en esterilización por óxido de etileno y radiación con y sin recubrimiento adhesivo, no debe ser menor de 0,2 $\mu\text{m}/\text{Pa.s}$ y no mayor de 6,0 $\mu\text{m}/\text{Pa.s}$

Para tela no tejida sin recubrimiento: no debe ser menor a 1 $\mu\text{m}/\text{Pa.s}$ con una presión de aire de 1,47 kPa.

Para tela no tejida con recubrimiento no debe ser menor a 0,3 $\mu\text{m}/\text{Pa.s}$ con una presión de 1,47 kPa.

Principio -

La presión de aire es ejercida por el peso de un cilindro vertical flotando en un líquido.

La probeta del material a ensayar está en contacto con el aire comprimido y el cilindro baja de manera uniforme mientras el aire pasa a través de la probeta. A partir de él se calcula la permeabilidad al aire del material de la probeta.

Aparatos -

Aparato de medida de resistencia al aire tipo GURLEY

Preparación de la muestra -

El material es acondicionado en condiciones ambientales estandarizadas especificadas, 23 ± 1 °C y 50 ± 2 % de humedad relativa.

El muestreo se realiza del modo más representativo posible

Cuando el aparato a utilizar posee las mordazas de fijación en la parte superior del cilindro interior, el tamaño de las probetas conveniente es 50 mm \times 120 mm. Para el aparato que tiene el sistema de fijación en la base, el tamaño de las probetas apropiado es 50 mm \times 50 mm.

Procedimiento -

Se ensayan cinco probetas con una cara hacia arriba y las otras cinco probetas con la otra cara hacia arriba.

El ensayo se realiza en las mismas condiciones atmosféricas que las utilizadas para el acondicionamiento de las muestras.

Se coloca el aparato sobre una superficie horizontal para que los cilindros queden verticales. El cilindro exterior debe estar lleno de aceite hasta una altura de 120 mm.

Cuando el aparato tiene la fijación en la base, se eleva el cilindro interior hasta que su borde quede sujeto por la presilla, se fija la probeta entre las mordazas, se suelta la presilla y se baja el cilindro interior hasta que flote.

Para el aparato que tiene la fijación en la parte superior, se eleva el cilindro interior con una mano, se fija la probeta con la otra mano y luego se baja el cilindro interior y se lo deja flotar en el aceite.

Se mide el tiempo en segundos que tarda el borde del cilindro exterior en enfrentar las marcas de los dos primeros intervalos consecutivos de 50 ml a partir del punto cero; o sea que se mide el tiempo necesario para el pasaje de 100 ml de aire, con la siguiente precisión:

- menor o igual a 60 segundos, se redondea a 0,2 segundos;
- entre 61 y 180 segundos, se redondea a 1 segundos;
- mayor a 180 segundos, se redondea a 5 segundos.

En el caso de papeles relativamente impermeables, la lectura puede tomarse al final del primer intervalo de 50 ml.

Para papeles muy abiertos puede cronometrarse el tiempo a mayor volumen de aire.

Resultados -

Se calcula la permeabilidad al aire con dos cifras significativas a partir de la fórmula siguiente:

$$P = 127/t$$

en la cual P es la permeabilidad al aire en, $\mu\text{m}/\text{Pa}\cdot\text{seg}$, y t es el tiempo promedio necesario para el pasaje de 100 ml de aire, en segundos. Si se utiliza un volumen distinto a 100 ml, la fórmula será:

$$P = 1,27V/t$$

en la cual V es el volumen cuyo tiempo de pasaje se cronometró, en ml, y los otros términos son los definidos anteriormente.

Si se necesita la desviación estándar, se calcula a partir de las medidas duplicadas del tiempo y se corrige utilizando la fórmula siguiente:

$$P = 127/t$$

Si la resistencia medida al aire es significativamente diferente en las dos caras y se requiere reflejarlo en el informe, se ensayarán diez muestras de cada cara.

Determinación de la absorción superficial de agua (Método de Cobb)

La determinación de la absorción superficial es aplicable a papel con y sin recubrimiento adhesivo.

La absorción superficial de agua es la masa calculada de agua, absorbida por 1 m^2 de papel, en un tiempo especificado.

La absorción superficial de cada uno de los lados del papel, papel para óxido de etileno y radiación con y sin recubrimiento, no debe ser mayor a 20 g por m^2 , empleando un tiempo de exposición de 60 segundos.

Reactivos y aparatos -

- Agua destilada o desionizada a $23 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$.
- Papel secante con gramaje de $250 \pm 25 \text{ g}$ por m^2 .
- Medidor de absorción de agua. Puede utilizarse cualquier tipo de aparato que permita:
 - a) un contacto inmediato y uniforme del agua con la parte de la probeta sujeta a ensayo.
 - b) una remoción rápida y controlada del agua no absorbida por la probeta al final del periodo de contacto.
 - c) una remoción rápida de la probeta sin riesgo de contacto con agua fuera del área de ensayo.

El aparato consiste en una base rígida con una superficie plana lisa y un cilindro de metal rígido con un diámetro interno de $112,8 \pm 0,2 \text{ mm}$ (correspondiente a un área de ensayo de aproximadamente 100 cm^2) y con un medio que permita el ajuste firme a la placa base. El borde del cilindro en contacto con la probeta debe ser plano y alisado, con un espesor suficiente como para evitar que corte la probeta.

- Rodillo de metal, con una superficie lisa, de 200 mm de ancho, un diámetro de $90 \pm 10 \text{ mm}$ y una masa de $10 \pm 0,5 \text{ kg}$.
- Balanza con una precisión de 1 mg.
- Cronómetro graduado en segundos, capaz de realizar medidas de hasta por lo menos 30 minutos.
- Cilindro graduado, u otros medios para medir alícuotas apropiadas.

Preparación de la muestra -

Las muestras deben ser representativas y previamente acondicionadas a $23 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ y $50 \pm 2 \%$ de humedad relativa.

Se preparan las probetas de ensayo en las mismas condiciones atmosféricas en las que se prepararon las muestras. Se debe evitar tocar el área de ensayo con las manos o los dedos. Se cortan de los ejemplares de ensayo por lo menos diez probetas de un tamaño suficiente como para exceder el diámetro del cilindro en por lo menos 10 mm, cuidando que el área de ensayo no tenga dobleces, quiebres, hendiduras u otros defectos.

Procedimiento -

El ensayo se realiza en las mismas condiciones atmosféricas en las que se acondicionaron las muestras.

Se pesa la probeta redondeando a 1 mg y se coloca con la superficie a ser ensayada hacia arriba sobre la placa base. Se coloca el cilindro con el borde alisado en contacto con la probeta y se lo ajusta lo suficientemente firme para evitar que se escape el agua entre ambos. Se vierte dentro del cilindro $100 \pm 5 \text{ ml}$ de agua e inmediatamente se activa el cronómetro. A los 45 ± 1 segundos,

teniendo cuidado que el agua no entre en contacto con la superficie de la probeta fuera del área de ensayo se quita el exceso de agua. Se quita la probeta del cilindro y se coloca, con la cara de ensayo hacia arriba, sobre una hoja de papel secante previamente colocada sobre una superficie rígida plana.

Luego de 60 ± 2 segundos después de haber iniciado el ensayo, se coloca una segunda hoja de papel secante sobre la superficie de la probeta y se quita el exceso de agua, usando el rodillo de mano, con dos pasadas sin ejercer presión alguna sobre el rodillo.

Inmediatamente después del secado se dobla la probeta con el lado húmedo hacia adentro y se pesa nuevamente, de modo que el incremento en masa debido a la absorción de agua pueda ser determinado antes de que se produzca cualquier pérdida por evaporación.

Las probetas deben descartarse si el agua pasó a través de la misma, o muestra señales de pérdidas alrededor del área ajustada, o muestra exceso de agua después del secado.

Resultados -

Se calcula la absorción de agua A , expresada en gramos por metro cuadrado, con una cifra decimal para cada probeta, por la fórmula siguiente:

$$A = (m_2 - m_1)F$$

en la cual A es la absorción de agua en g por m^2 , m_1 es la masa seca en g de la probeta, m_2 es la masa húmeda en g de la probeta, F es igual a $10.000/\text{área}$ de ensayo (para aparatos normales esto es 100 cm^2).

Para cada lado ensayado se calcula la absorción de agua promedio redondeando a $0,5 \text{ g por } m^2$ y la desviación estándar.

Determinación de la impermeabilidad o ausencia de poros en film y laminados plásticos

Aparatos y reactivos -

1- esponja normal, hecha de un bloque de esponja de celulosa con unas dimensiones nominales de $110 \text{ mm} \times 75 \text{ mm} \times 32 \text{ mm}$ unida con adhesivo a prueba de agua a una placa metálica de $110 \text{ mm} \times 75 \text{ mm} \times 12 \text{ mm}$ de modo que la masa total es 800 ± 50 gramos.

2- Bandeja, no menor de 15 mm de profundidad y dimensiones mínimas de $130 \text{ mm} \times 95 \text{ mm}$.

3- Papel absorbente, blanco, filtro de absorción media o media rápida o papel de cromatografía.

4- Superficie de vidrio plano.

5- Solución acuosa de tinción, 1 g por 100 ml de rojo amaranto que contenga $0,005 \%$ de cetrimida como agente humectante.

Preparación de las muestras -

Se toman cinco bolsas mixtas (pouch) o tramos de rollo no menor a 250 mm de largo y se remueve la capa de plástico identificando la cara externa para determinación en laminados plásticos. Se toman cinco envases flexibles plásticos para el caso de film plásticos de la misma medida.

Procedimiento -

Se coloca un pedazo de papel absorbente de tamaño similar a la muestra sobre el vidrio plano y se coloca la cara interna de la película a ser ensayada en contacto con el papel absorbente.

[NOTA: para bolsas mixtas o rollos con fuelle, el ensayo debe ser realizado sobre una sola capa de lámina plástica incluyendo el área que se encuentra doblada.]

Se vierte la tinta en la bandeja y se coloca la esponja en la bandeja por un minuto. Se retira la esponja removiendo el exceso de tinta con el borde de la bandeja.

Se coloca la esponja sobre la muestra asegurándose que la esponja no esté a menos de 15 mm del borde y se deja por 2 minutos. Se retira la esponja y se examina el papel absorbente buscando manchas causadas por la penetración de la tinta. Se repite el procedimiento para el resto de las muestras.

Se informa el número de muestras que permitieron que se manchara con la tinta el papel absorbente.

La película plástica debe estar libre de perforaciones.

Determinación del factor de rompimiento de la película plástica:

El factor de rompimiento de la película plástica no debe ser menor de 20 Newtons por 15 mm de ancho.

Principio -

El ensayo consiste en estirar hasta la ruptura una probeta normalizada de película plástica a una determinada velocidad de ensayo, utilizando un aparato de ensayo de tracción que mida fuerza.

Aparatos -

Equipo para ensayo de tracción que se adapte a las características de las probetas y las condiciones de ensayo.

Preparación de las muestras -

Las muestras deben ser acondicionadas a 23 ± 2 °C y 50 ± 5 % de humedad relativa por no menos de 40 horas previas al ensayo.

El número de muestras a ensayar será de cinco en el caso de materiales isotrópicos. Para materiales anisotrópicos, se utilizará un mínimo de diez muestras, cinco para dirección normal y cinco en dirección de la anisotropía.

Las muestras consisten en tiras de ancho y espesor uniforme, con un mínimo de 50 mm más largas que la mordaza de separación utilizada. El ancho de las tiras no debe ser menor que 5,0 mm ni mayor a 25,4 mm.

Se debe tener especial atención al corte de las tiras para prevenir marcas y roturas dentro de lo posible que pueden causar falla prematura.

La variación de espesor de las tiras puede ser del 10 % para materiales de 0,25 mm de espesor o menos y dentro del 5 % en el caso de materiales con espesor mayor a 0,25 mm pero menor que 1,00 mm.

La longitud estándar de las tiras será de 250 mm.

Procedimiento -

Se mide el área de sección transversal de la muestra a varios puntos a lo largo de su longitud. Se mide el ancho con una exactitud de 0,25 mm o mayor. Se mide el espesor con una exactitud de 0,0025 mm o mayor para films menores que 0,25 mm de espesor y con una exactitud de 1 % o mayor para films mayores a 0,25 mm pero menores que 1,0 mm de espesor.

Se coloca la probeta muestra entre las mordazas. Se selecciona un rango de carga tal que la falla en la muestra ocurra por encima de los dos tercios. La separación inicial de las mordazas dependerá del porcentaje de elongación que tenga el material. Se especifica en *Tabla 1*.

La velocidad de ensayo debe ser calculada desde el requerimiento inicial de tensión como se indica en *Tabla 1*.

La tasa de separación de las mordazas puede calcularse como:

$$A = B.C$$

en la cual *A* es la tasa de separación de las mordazas en mm por minuto, *B* es la distancia inicial entre las mordazas en mm, y *C* es la tensión inicial en mm/mm.min.

Se mide la máxima fuerza aplicada que rompió la película.

Resultado -

El factor de rompimiento se calculado dividiendo la máxima fuerza por el ancho mínimo de la muestra. Los resultados se expresan en fuerza

por unidad de extensión en ancho, usualmente N/15 mm de ancho.

Determinación de la resistencia a la delaminación de las láminas plásticas en bolsas mixtas

El ensayo es aplicable a todos los envases mixtos.

Preparación de las muestras -

Se toman diez bolsas mixtas y se llenan hasta la mitad con gasa de algodón.

Procedimiento -

Se sellan las muestras de acuerdo a las recomendaciones del fabricante con una selladora de calor.

Se colocan las muestras en un esterilizador. El ciclo de operación debe ser ajustado a los límites definidos por el fabricante para el material de empaque y los parámetros validados del ciclo operativo.

Se lleva a cabo el ciclo, se retiran y examinan las muestras visualmente.

Resultados -

Se reporta el número de muestras que han estallado y el número de láminas de plástico en las cuales se presenta desprendimiento de las capas o se opacan.

El envase no debe estallar y la lámina plástica no debe delaminarse ni opacarse.

ENSAYOS FUNCIONALES PARA ENVASADO FINAL

Determinación de la pelabilidad en los productos papel/laminado plástico

Equipos

Regla graduada en intervalos de 0,5 mm.

Procedimiento -

Lenta y cuidadosamente se despega el termosellado con las manos. Visualmente se revisa que el termosellado se extienda a lo largo de todo el ancho y largo de las líneas de sellado y que no haya un desprendimiento de papel mayor a 10 mm desde las líneas de sellado.

Cuando el termosellado se desprende generalmente se muestra una apariencia mate donde el sellado se llevó a cabo, pero la apariencia brillante se conserva donde no hubo un sellado satisfactorio.

Se mide el ancho del termosellado en la cara interna del plástico en cinco partes diferentes.

Resultados -

Se reporta el promedio y anchos mínimos del termosellado (con aproximación a 0,5 mm) y cualquier tipo de imperfección en la línea de sellado o desprendimiento del papel mayor a 10 mm del borde del sellado.

El sello debe cubrir el ancho total y el largo total de las líneas individuales del termosellado y no debe haber rasgado de papel más de 10 mm desde el borde de la línea de termosellado.

Determinación de la resistencia de la línea de termosellado para bolsas mixtas

Aparatos -

a- Esterilizador, conforme al proceso validado.

b- Medidor de tensión con una tasa de separación continua, con una variación de ± 10 mm por minuto que permita determinar la resistencia a la tensión al momento de falla con una precisión de ± 1 %.

Preparación de las muestras -

a- Seco: se cortan cinco tiras de $15 \pm 0,1$ mm de ancho y con un largo suficiente para usar el equipo con la bolsa mixta a ensayar, a ángulo recto o perpendicular a la línea de sellado, quedando ésta aproximadamente en el centro de la tira.

b- Seco-esterilizado: se corre el ciclo de esterilización y se preparan cinco tiras como está indicado en *a*.

c- Húmedo: se preparan cinco tiras como en *a*. Inmediatamente antes de ensayar la muestra se sumerge la parte central en agua purificada a 23 ± 2 °C con la línea de sellado al centro de la sección húmeda. Después de un minuto de inmersión se retira la tira, se remueven los excesos de agua con un trozo de papel absorbente y se ensaya.

d- Húmedo esterilizado: se corre el ciclo de esterilización y se preparan las muestras de acuerdo a *c*.

Procedimiento -

Se sujeta la punta de la lámina de plástico en una de las pinzas de la máquina y la otra punta de papel en la otra pinza dejando un pequeño margen desde la punta. Se despega el sello a una tasa de separación de 200 ± 10 mm por minuto y se registra la fuerza máxima.

Resultados -

Se reporta la resistencia del termosellado de cada muestra en Newtons por 15 mm de ancho.

La resistencia del termosellado con muestra seca no debe ser menor a 1,5 N por 15 mm de ancho, antes y después de someterse al proceso de esterilización.

La resistencia del termosellado con muestras húmedas no debe ser menor a 1,2 N por 15 mm de ancho, antes y después de someterlo al proceso de esterilización.

Determinación de fugas por emisión de burbujas

Este método cubre la determinación completa de fugas en envases flexibles no porosos conteniendo headspace (espacio libre superior).

La sensibilidad es limitada a 1.10^{-5} atm.cm³/s (1.10^{-6} Pa.m³/s).

Pequeñas fugas pueden no ser detectadas por este método. Los efectos visco-elásticos de los productos, o el aire atrapado, puede ser significativo y ocluir pequeñas aberturas.

La presión positiva dentro del envase después del vacío puede forzar a tapar pequeñas fugas. El tamaño de la fuga que puede ser detectado es dependiente del producto que contiene, de la naturaleza del material de envase y de los parámetros seleccionados del ensayo.

Aparatos -

Cámara de vacío: contenedor transparente capaz de resistir aproximadamente 1 atm de presión diferencial, adecuada con una tapa ajustada. Manómetro para vacío, un tubo de entrada de la fuente de vacío y un tubo de salida a la atmósfera que puede conectarse con la tapa de la cámara. Los tubos de entrada y salida pueden ser equipados con válvulas manuales. Adjunto a la parte inferior de la tapa, un plato con las dimensiones aproximadas de la cámara.

Reactivos -

Fluido de inmersión: se debe usar un fluido de inmersión que no degrade el envase a ensayar. Fluidos con baja tensión superficial son más sensibles, como por ejemplo, agua, agua tratada con un agente humectante, alcohol desnaturalizado, aceite mineral.

Muestras -

El número de muestras a usar puede ser variable acorde con la naturaleza del producto, el costo, el tamaño, y el tamaño del lote de producción. El envase puede estar con o sin contenido.

Las muestras y el fluido deben estar en equilibrio con la temperatura ambiente.

Procedimiento -

1- Sumergir la muestra en el fluido contenido en la cámara. La superficie

superior de la muestra debe estar cubierta por no menos de 25 mm de fluido. Una o más muestras pequeñas pueden ensayarse al mismo tiempo, siempre que todas las partes de los envases bajo ensayo puedan ser observados.

2- Colocar la tapa a la cámara de vacío, cerrar la válvula de salida, aplicar vacío lentamente (1 inHg/s) hasta el nivel de vacío seleccionado. El nivel de vacío elegido debe ser lo más largo posible para asegurar óptima sensibilidad del ensayo. El factor límite puede incluir la fragilidad del envase, el grado de expansión del envase y la presión de vapor del fluido.

3- Durante el aumento del vacío, observar la muestra sumergida por fugas, en forma de progresión continua de burbujas del envase. Burbujas aisladas causadas por aire atrapado no son consideradas. Además considerar el incremento aproximado del volumen del envase. La presión diferencial del ensayo está inversamente relacionada con el aumento de volumen en la muestra; por lo tanto un incremento significativo del volumen disminuye o desmerece la severidad del ensayo. Envases flexibles con una pequeña cabeza o espacio libre no pueden ser realmente evaluados por este método.

4- El vacío debe ser sostenido por un espacio de tiempo especificado [NOTA: 30 segundos es lo recomendado.]

5- Liberar el vacío, remover la tapa y examinar la muestra para ver presencia de fluido dentro del envase.

Interpretación de resultados -

1- Si hay burbujas definidas durante la aplicación de vacío se considera que la muestra falló el ensayo.

2- Si hay fluido dentro del envase, falló el ensayo.

3- Si no hay burbujas y no hay fluido dentro del envase, la muestra pasó el ensayo.

Determinación de fugas en el sellado por penetración de colorante

El método de determinación de fugas por medio de penetración de colorante detecta una fuga igual o mayor a la producida por un canal de 50 micrones en la unión del sellado de un envase formado por un film transparente y un material de papel poroso.

El método se encuentra limitado a materiales porosos que pueden retener la solución colorante y prevenir la decoloración del área de sellado por un mínimo de 20 segundos. Papeles no recubiertos son especialmente susceptibles a fugas y deben ser evaluados cuidadosamente de un lado y otro. El método requiere que la solución colorante tenga buen contraste con el color original del envase.

Este procedimiento de penetración de colorante es aplicable solo para fugas individuales en el sellado del envase.

Aparatos y reactivos -

Dispositivo para aplicación del colorante dentro del envase que puede ser una jeringa con aguja.

Microscopio o lente óptico con una resolución de 5X a 20X.

Solución de colorante: solución acuosa con 0,5 % de Tritón X-100 y 0,05 % de azul de tolueno. La solución se prepara agregando a un recipiente apropiado el 10 % de la cantidad de agua requerida; luego se agrega el Tritón y se bate la mezcla. Una vez que el Tritón se dispersa, el remanente de agua puede ser volcado y se agrega la tintura de azul de tolueno. Otro colorante o tintura fluorescente puede utilizarse pero su precisión debe ser determinada.

Muestras -

Las muestras de envases a las cuales se determinará fuga, deberán contener producto dentro. Los envases deben estar libres de condensaciones o de cualquier otra forma de agua líquida. La existencia de agua en la parte defectuosa del sellado puede volver la fuga indetectable por este método. Las muestras deben ser acondicionadas antes del ensayo a 23 ± 2 °C y 50 ± 2 % de humedad relativa por 24 horas.

Procedimiento -

Limpiar el envase previo a la aplicación del colorante. Inyectar suficiente colorante para cubrir la longitud de la unión a una profundidad de 5 mm. Permitir a la solución tomar contacto con el sellado por un tiempo mínimo de 5 segundos y un tiempo máximo de 20 segundos. Las fallas serán detectadas durante este periodo, pero más allá de este tiempo, la solución colorante ingresará al material poroso y dará color a la totalidad del sellado.

Girar el envase lo necesario como para exponer todo el sellado a la solución colorante. Inyectar si es necesario más colorante para asegurar la completa exposición del sellado.

Examinar con lente óptico el área de sellado a través del lado transparente del sellado.

Las fallas en el sellado serán detectadas porque el colorante ingresará rápidamente al área adyacente

a la falla, haciendo una mancha más grande que el tamaño de ésta.

La evidencia de penetración de colorante al otro lado del sellado o en el interior de éste debe ser tomada como indicador de presencia de un sitio de fuga.

La evidencia de penetración de colorante a través del material poroso formando un área húmeda no debe ser tomada como presencia de un sitio de fuga.

Este método no es cuantitativo. Del ensayo no se desprenden indicadores del tamaño de la fuga.

Ensayo de envejecimiento acelerado de envases de productos médicos estériles

El ensayo de envejecimiento acelerado permite determinar en forma rápida los efectos del pasaje del tiempo y efectos ambientales sobre la integridad de envases estériles y las propiedades físicas de sus materiales constitutivos relacionadas con la seguridad y función del material de empaque.

El ensayo se basa en la suposición de que las reacciones químicas involucradas en el deterioro de los materiales y sus propiedades siguen la función de Arrhenius. Esta función manifiesta que un aumento o disminución de 10 °C en la temperatura de un proceso homogéneo resulta en cambios de aproximadamente 2 a 2,5 tiempos en la velocidad de reacción química Q_{10} .

Aparatos -

Estufa o gabinete con circulación de aire a la temperatura y humedad relativa seleccionados para el ensayo, con controladores capaces de mantener los parámetros seleccionados y con los límites de tolerancia propuestos.

Preparación de las muestras -

Previo a la determinación del ensayo se deberá realizar la caracterización de los materiales de envases a ensayar como:

- morfología (vítrea, amorfa, semicristalina, altamente cristalina, porcentaje de cristalinidad, etc.).
- transiciones térmicas: T_m (temperatura de fusión); T_g (temperatura de transición vítrea); T_a (temperatura de distorsión por calor).
- Aditivos, agentes ayuda proceso, catalizadores, etc.

La caracterización del material de empaque establecerá los límites de temperatura de ensayo a utilizar.

Las muestras deberán ser sometidas al proceso de esterilización validado al que se someterá normalmente el empaque.

El número de muestras a utilizar deberá ser representativo del lote de producción. Se recomienda como mínimo un número de 5 muestras para cada tiempo ensayado.

Procedimiento -

1- Selección de la temperatura de ensayo: la temperatura de ensayo se selecciona teniendo en cuenta las características del material. Altas temperaturas no son recomendables, porque si bien acortan los tiempos de envejecimiento acelerado, pueden tener un efecto sobre el material que no ocurre en tiempo real o a temperatura ambiente y, a temperaturas mayores a 60 °C los cambios en los sistemas poliméricos no son lineales. Las temperaturas deben estar por debajo de las que produzcan transiciones térmicas en el material como por ejemplo menor de 10 °C de su T_g .

2- Determinación del Factor de envejecimiento acelerado (F_{EA}). Es el índice de tiempo calculado para producir los mismos cambios en el envase que en tiempo real.

$$F_{EA} = Q_{10}^{(T_{EA} - T_{TR})/10}$$

en la cual T_{EA} es la temperatura a la cual se realizará el ensayo de envejecimiento; y T_{TR} es la temperatura que representa las condiciones de almacenamiento real. El valor de Q_{10} para estos ensayos se estandariza en 2.

3- Se determina el t_{EA} (tiempo de ensayo para el envejecimiento acelerado) como:

$$t_{EA} = \text{tiempo real o deseado} / F_{EA}$$

Se determinan además los intervalos de tiempo a usar para realizar los ensayos, además del tiempo cero y el tiempo de envejecimiento acelerado.

4- Se definen las propiedades del material a ensayar a los distintos tiempos, utilizándose el ensayo de integridad y el ensayo de resistencia física tales como la resistencia de sellado, la integridad de sello, la resistencia a la tracción, la resistencia al desgarro, la resistencia al impacto, etc. Se definen las cantidades de muestras a evaluar y los criterios de aceptación de acuerdo a la propiedad a evaluar. Las propiedades seleccionadas del envase a evaluar serán aquellas que resulten las más críticas para el

envejecimiento, resultante del stress del tiempo.

5- Se realiza el ensayo sometiendo las muestras luego del proceso de esterilización a la estufa con la temperatura de ensayo determinada.

6- Se evalúan las propiedades del material a los tiempos establecidos del ensayo.

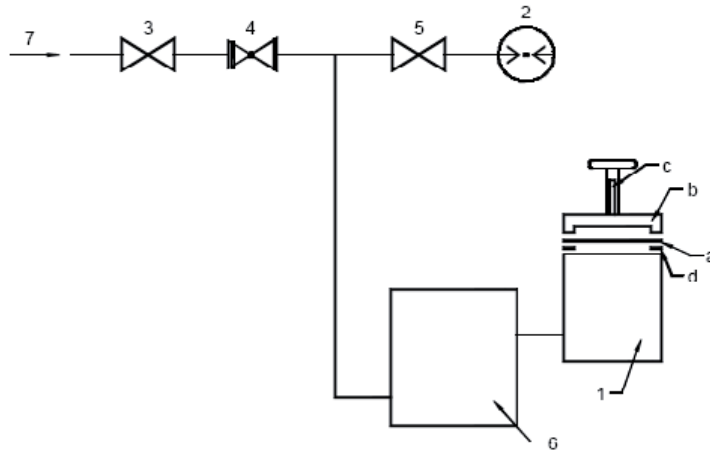
Resultados:

- a) Si los resultados del ensayo de envejecimiento acelerado se encuentran dentro de los límites de aceptación, entonces la durabilidad del envase puede asumirse al tiempo real presumido para el ensayo.
- b) Si los resultados del ensayo de envejecimiento acelerado no se encuentran dentro de los límites de aceptación, se debe evaluar una durabilidad menor o a tiempo real.
- c) Los resultados del ensayo siempre deben comprobarse a tiempo real para considerar validada la fecha de caducidad.

Tabla 1 - Determinación del factor de rompimiento de la película plástica

<i>% de elongación a la rotura</i>	<i>Tasa de tensión inicial (mm/mm.min)</i>	<i>Separación inicial de mordazas (mm)</i>	<i>Tasa de separación de mordazas (mm/min)</i>
menor que 20	0.1	125	12.5
entre 20 y 100	0.5	100	50
mayor que 100	10.0	50	500

Figura 1 – Equipo para la determinación del tamaño de poro



1-Cabezal de ensayo.

2-manómetro.

3-válvula de corte.

4-válvulas reguladoras de presión.

5-válvula de corte.

6-depósito de aire.

7-suministro de aire.

a- muestra

b- abrazadera

c- tornillo

d- empaque de caucho.

475. ESTERILIZACIÓN

Se denomina esterilización al proceso validado por medio del cual se obtiene un producto libre de microorganismos viables. El proceso de esterilización debe ser diseñado, validado y llevado a cabo de modo de asegurar que es capaz de eliminar la carga microbiana del producto o un desafío más resistente.

Dado que la esterilidad no puede demostrarse de manera absoluta sin causar la destrucción completa de todas las unidades del lote de producto terminado, se define la esterilidad en términos probabilísticos, en donde la probabilidad de que una unidad de producto esté contaminada es aceptablemente remota. Se considera que un producto crítico es estéril cuando la probabilidad de que un microorganismo esté presente en forma activa o latente es igual o menor de 1 en 1.000.000 (coeficiente de seguridad de esterilidad 10^{-6}).

Para llevar a cabo los procesos de esterilización se requiere:

- Instalaciones y suministros calificados;
- Equipamiento calificado y con mantenimiento preventivo periódico;
- Precauciones para disminuir la carga microbiana inicial del producto hasta un valor mínimo;
- Procesos de esterilización validados;
- Personal calificado y entrenado;
- Controles sobre el ambiente y sobre el personal;
- Monitoreo y registro de los procesos de rutina.

La validación es el procedimiento que permite obtener, registrar e interpretar datos con el fin de demostrar que un equipo o proceso cumple en todas las ocasiones con las especificaciones predeterminadas. Aplicado a los procesos de esterilización, la validación evalúa la aptitud del esterilizador y califica su funcionamiento con la carga del producto. Consta de las siguientes actividades secuenciales documentadas:

- Calificación de la Instalación
- Calificación Operativa
- Calificación de Desempeño

Calificación de la Instalación

Implica demostrar en forma documentada que todos los aspectos de la instalación y los suministros del equipo son los correctos y se cumplen las especificaciones del fabricante.

Consiste en verificar el cumplimiento de las especificaciones de diseño y de las características de construcción, verificar la correspondencia de

todos los componentes del equipo y planos; verificar la calidad, capacidad, presión, tipo y pureza (de ser aplicable) de todos los suministros. Los instrumentos destinados a evaluar las variables críticas del proceso se deben calibrar frente a un estándar o patrón de referencia nacional. En el caso que exista un programa que ejecute el proceso de esterilización (microprocesador), el mismo debe validarse por un procedimiento establecido.

Calificación operativa

Su objetivo es verificar que todos los componentes del equipo funcionan de acuerdo a lo especificado. Para este efecto se deben poner a prueba de operación normal todos los dispositivos del equipo y evaluar la uniformidad y reproducibilidad de las variables críticas del proceso, sin carga de producto.

Calificación o certificación de desempeño

Implica demostrar en forma documentada que el equipo produce un producto apropiado (coeficiente de seguridad de esterilidad 10^{-6}) cuando opera de acuerdo con las especificaciones del proceso.

Para estos efectos, es necesario definir el tipo y patrón de carga a esterilizar considerando los artículos y sus respectivos empaques. El patrón de carga es un aspecto crítico en relación a la distribución del calor o del agente esterilizante dentro de la cámara.

La Calificación de desempeño incluye la Calificación de Parámetros físicos y la Calificación microbiológica

Calificación de desempeño física - La primera fase en la Calificación de desempeño consiste en desarrollar perfiles de temperatura en la carga, evaluando la efectividad de la penetración del calor en el producto, y caracterizar los cambios de presión a lo largo del ciclo.

Calificación de desempeño microbiológica - Consiste en validar los ciclos en cuanto a la capacidad de eliminación de microorganismos utilizando indicadores biológicos incorporados a los productos, o en su defecto utilizando productos simulados inoculados con portadores biológicos. Durante la calificación microbiológica se debe verificar que finalizado el ciclo se ha alcanzado en el producto la probabilidad de supervivencia de 10^{-6}

Habitualmente cuando el producto es termoestable se utiliza la aproximación de sobremuerte, en este enfoque no se tiene en cuenta el tipo ni la cantidad de microorganismos

contenidos inicialmente en el producto a esterilizar, utilizando como referencia solamente la población y resistencia del bioindicador.

El segundo enfoque, aproximación de supervivencia, es aplicable solamente al desarrollo y validación de ciclos en los que el producto puede ser alterado por el proceso de esterilización, por ejemplo, la esterilización por calor húmedo de productos sensibles al calor.

Se denomina esterilización terminal al proceso aplicable cuando el producto se esteriliza en su envase definitivo. Cuando la naturaleza del producto impide su esterilización terminal se debe proceder a esterilizar en forma separada cada uno de sus componentes por cualquiera de los métodos de esterilización terminal descriptos a continuación, seguido de un proceso de preparación aséptica del producto final.

Los procesos de preparación aséptica de productos estériles a partir de componentes preesterilizados deben también ser certificados y validados; algunos puntos críticos de la validación del proceso incluyen ensayos de eficacia de los sistemas de filtración de aire y el procesamiento de un producto simulado estéril.

Métodos y condiciones de esterilización

Se debe llevar a cabo el proceso de Esterilización por alguno de los métodos que se describen a continuación, teniendo en cuenta las características del producto médico, como por ejemplo su resistencia térmica.

Clasificación

- Físicos
 - Calor húmedo,
 - Calor seco,
 - Radio-esterilización,
 - Filtración.
- Químicos
 - Óxido de etileno,
 - Vapor a baja temperatura con formaldehído,
 - Plasma de peróxido de hidrógeno.

Esterilización por calor húmedo Vapor de agua saturado

Es el método de elección siempre que sea aplicable. Su efecto esterilizante se fundamenta en la acción del calor transmitido por el vapor saturado a presión superior a la normal sobre los componentes celulares, produciendo coagulación proteica, ruptura de DNA y RNA y pérdida de material de bajo peso molecular, logrando así inactivación de los microorganismos. Los parámetros críticos del proceso son temperatura,

tiempo y vapor saturado, siendo la temperatura de referencia para el proceso 121 °C. La selección del tipo de ciclo de esterilización a emplear depende de la configuración del producto y de la capacidad del mismo y del empaque para soportar las temperaturas, la presión y el calor transferidos. Los factores que pueden influenciar la esterilización de los productos son: tipo de empaque según su densidad y porosidad, composición y complejidad del dispositivo en cuanto a diseño y resistencia térmica, y el tipo de carga en el esterilizador, homogénea o heterogénea, volumen de la cámara ocupado, etc.

Los ejemplos de tiempos de exposición en ciclos de vapor saturado son 134 °C para un tiempo de exposición mínimo de 3 minutos y, 121 °C para un tiempo de exposición mínimo de 15 minutos. Pueden ser utilizadas relaciones tiempo-temperatura distintas de las mencionadas. En todos los casos debe validarse cada proceso en particular.

Un ciclo típico de esterilización por vapor consta de una etapa inicial de eliminación previa del aire de la cámara y de los productos, lo que se consigue habitualmente por medio de vacío fraccionado alternado con inyecciones de vapor saturado, seguido de la etapa de esterilizado o tiempo de contacto con el vapor saturado a la temperatura preestablecida; finalmente se procede al secado del material, etapa fundamental para mantener las propiedades barrera del envase.

Cuando el material no admite ser sometido a la acción del vacío se utiliza la remoción previa del aire por desplazamiento gravitacional; en estos casos se omite la etapa de secado posterior al esterilizado, ya que la naturaleza de los productos (generalmente líquidos en envases flexibles o rígidos), no lo requiere.

Controles de proceso

- Ensayo de eliminación del aire y penetración del vapor ó Test de Bowie-Dick,
- Temperatura en la cámara y en la carga,
- Presión en cámara,
- Indicador químico de proceso,
- Indicador biológico.

No puede utilizarse para procesar materiales termosensibles, alterables por la humedad, sustancias oleosas, grasas, polvos y materiales eléctricos.

Concepto de F_0 y aplicación a la esterilización por vapor

El valor de F_0 de un proceso de esterilización por vapor saturado es la letalidad lograda en el producto en su envase definitivo, expresada en

términos de tiempo equivalente en minutos, a una temperatura de 121 °C, referenciando la carga biológica del producto a la de un microorganismo hipotético que posee un valor Z de 10 °C

El valor Z relaciona la resistencia al calor de un microorganismo con los cambios de temperatura.

Z se define como el cambio de temperatura en grados centígrados requerido para modificar el tiempo de reducción decimal D en un factor de 10, siendo D para una dada temperatura de esterilizado, el tiempo requerido para reducir el número de microorganismos viables a un 10 por ciento del número original.

La utilización del concepto matemático de F_0 es particularmente útil en la esterilización de productos termosensibles a temperaturas inferiores a 121 °C, ya que permite calcular el tiempo equivalente a 121 que produciría el mismo efecto letal que el tiempo de exposición a las temperaturas y condiciones reales a las que es sometido el producto.

El F_0 total de un proceso tiene en cuenta las fases de calentamiento y enfriamiento del ciclo y se puede calcular por integración de las tasas de letalidad con respecto al tiempo, a intervalos distintos de temperatura a la que está siendo sometido el producto a esterilizar.

Cuando se diseña y se valida un ciclo de esterilización por vapor tomando como base el concepto de F_0 , el criterio microbiológico es el de aproximación de supervivencia, en lugar del más habitual criterio de sobremuerte; debiendo el proceso entregar al producto la mínima cantidad de calor (F_0 mínimo) para alcanzar el nivel de seguridad de esterilidad de 10^{-6} , sin afectar adversamente sus características por excesivo calentamiento.

En estos procesos es preciso tomar precauciones para asegurar que se consigue en forma repetitiva una garantía adecuada de esterilidad, debiéndose demostrar que los parámetros microbiológicos garantizan un nivel de aseguramiento de esterilidad de 10^{-6} o menor.

Esterilización por calor seco

El mecanismo de acción microbicida se basa en la acción oxidante del aire seco caliente que circula por convección forzada a través de los productos.

Los parámetros críticos del proceso son temperatura y tiempo, siendo las relaciones sugeridas, 160 °C durante 2 horas y 170 °C durante 1 hora. Estas temperaturas se relacionan con el tiempo de exposición después de haberse logrado la temperatura específica en el punto más frío de la carga y no incluye tiempos de calentamiento.

El método de calor seco se utiliza también para la esterilización y despirogenación simultánea de envases de vidrio, ya sea operando en lotes o como un proceso continuo, en este último caso como parte integral de un proceso de llenado aséptico de producto. En los procesos de despirogenado las temperaturas empleadas son más elevadas que las requeridas con fines de esterilización únicamente, utilizándose habitualmente 250 °C por 5 minutos; la implementación de un proceso continuo como parte de un llenado aséptico requiere un control estricto de la calidad microbiológica del aire circulante en la cámara durante el esterilizado y el enfriamiento posterior.

Para los procesos de despirogenado, el programa de validación debe incluir en la calificación de desempeño la demostración de la destrucción de endotoxinas por debajo del límite permitido en el ensayo de referencia (ver 330. *Ensayo de endotoxinas bacterianas*).

Controles de proceso

- Temperatura en distintos puntos de la cámara y de la carga

- Indicador químico de proceso e indicador biológico.

El método permite la esterilización de polvos, aceites, soluciones no acuosas, y el despirogenado de materiales resistentes al calor (ejemplo, envases de vidrio). Debido a que el aire caliente se estratifica debe utilizarse circulación forzada en los equipos.

Esterilización por radiación

La radio-esterilización se basa en la aplicación de radiación ionizante procedente de una fuente de radioisótopos de Co^{60} o Cs^{137} emisoras de radiación gamma, o de un haz de electrones de alta energía, obtenida con un acelerador de electrones o de un generador de rayos X. En ambos casos el parámetro crítico del proceso es la dosis absorbida por el producto.

Aunque históricamente se ha utilizado 25 kGy como dosis absorbida de referencia, la preselección de esta dosis debe ser convalidada experimentalmente; en muchos casos es recomendable la utilización de dosis menores o mayores que la de referencia, dependiendo de las propiedades del material, el grado de contaminación del producto, y el coeficiente de seguridad de esterilidad buscado.

En la radio-esterilización la determinación de la dosis se debe establecer dentro de un rango de dosis máxima-dosis mínima que asegure que las propiedades del artículo no se vean alteradas.

La validación de un proceso de esterilización por radiación incluye el estudio de la compatibilidad de los artículos a esterilizar con la radio-esterilización, evaluando el posible deterioro o degradación; el establecimiento del patrón de carga del producto; la demostración mediante dosímetros que se ha alcanzado la dosis de esterilización preestablecida, el mapeo de dosis en el contenedor de esterilización (incluyendo la identificación de zonas de dosis máxima y dosis mínima); y la determinación del tiempo de exposición para lograr esta distribución de dosis en el producto.

Es aplicable sobre una amplia variedad de productos, aunque se debe considerar la posibilidad de cambios cualitativos luego de la aplicación de este método, puesto que produce ruptura de uniones químicas en las macromoléculas, y formación de especies reactivas (radicales libres) que pueden provocar alteraciones variadas en los materiales.

Filtración

Este método está indicado para soluciones lábiles al calor. Los microorganismos presentes son removidos mediante el pasaje de la solución a través de un medio filtrante de tamaño de poro adecuado. Los elementos que entren en contacto con la solución deben ser estériles, el ambiente de contaminación controlada y la técnica aséptica.

A pesar de que las sustancias que han sido filtradas por este método se denominan “estériles”, por estar libres de bacterias y hongos y sus esporas, éstas pueden contener virus activos que no son removidos por el filtro.

Otros factores fundamentales a tener en cuenta son la posible adsorción de drogas, aditivos o conservadores por el material filtrante, el contenido de endotoxinas y la carga microbiana de la solución; éste último factor condiciona la selección de otros parámetros críticos del proceso, tales como la presión de filtración y la velocidad de filtración.

Los materiales de filtración disponibles actualmente incluyen acetato de celulosa, nitrato de celulosa, acrílicos, policarbonato, poliéster, PVC, nylon, vinilo, PTFE, y membranas metálicas entre otros. En todos los casos las membranas deben tener la capacidad de retener el 100% de un cultivo de 10^7 de *Pseudomonas diminuta* (ATCC 19146) por cm^2 de superficie de la membrana a una presión de no menos de 30 psi (2,0 bares). La clasificación nominal de estas membranas es de 0,2 o 0,22 μm dependiendo del fabricante.

Las membranas diseñadas para la retención de Micoplasmas deben tener un tamaño nominal de 0,1 μm .

La integridad del dispositivo filtrante debe ser verificada antes y después del procedimiento a los efectos de determinar la eficacia del proceso. Dentro de las metodologías habitualmente utilizadas para este fin se incluyen los ensayos de punto de burbuja, difusión y mantenimiento de la presión. Los valores de aceptación deben ser provistos por el fabricante del dispositivo.

La esterilización por filtración no garantiza la eliminación de virus, micoplasmas ni priones. La presencia de estos agentes debe evitarse mediante selección, control y manejo adecuado de la materia prima.

Esterilización por óxido de etileno

El óxido de etileno es un agente alquilante que reacciona con grupos químicos presentes de los ácidos nucleicos y proteínas de los microorganismos. Su utilización como alternativa a métodos físicos se justifica exclusivamente cuando por su naturaleza el producto pueda sufrir alteraciones por calor.

Los parámetros críticos del proceso son temperatura, concentración del gas, humedad relativa porcentual y tiempo de esterilizado.

El proceso de esterilización consta de varias etapas secuenciales:

- Preacondicionamiento del producto,
- Ciclo propiamente dicho: remoción del aire, acondicionamiento del producto, inyección del gas, esterilizado y desgasificación o lavado del gas de la cámara,
- Aireación forzada del producto, la que puede efectuarse en la misma cámara del esterilizador o en una cámara o recinto independiente.

Usualmente también se utilizan instalaciones independientes para preacondicionar la carga hasta lograr la temperatura y humedad relativa requeridos para el proceso, minimizando así el tiempo de acondicionamiento del producto en la cámara del esterilizador.

La validación del proceso exige requisitos adicionales a los necesarios para procesos basados en la acción del calor; tales como la caracterización estricta de las variaciones de presión en cámara a lo largo de las distintas etapas del ciclo, la medición del tenor de humedad relativa en las etapas de preacondicionamiento y acondicionamiento, la medición de la concentración de gas en el esterilizado, y la determinación de las condiciones de aireación forzada de los productos esterilizados de modo de lograr niveles de residuos y productos

de reacción compatibles con los límites máximos permitidos.

Controles de proceso

- temperatura de la cámara y de la carga,
- control directo o indirecto de la humedad relativa porcentual en cámara y de la concentración de gas en cámara alcanzada en el esterilizado,
- tiempo de esterilizado,
- indicador químico de proceso e indicador biológico.

El método tiene aplicación sobre amplia variedad de productos médicos, permitiendo operar aún a temperaturas inferiores a 40 °C. El óxido de etileno es tóxico, inflamable y explosivo, por lo que se requiere para la operación de los esterilizadores establecimientos equipados con las instalaciones y medidas de seguridad necesarias para el almacenamiento y manipuleo correcto de este producto.

La emisión ambiental debe estar controlada, por tratarse de una sustancia cancerígena e irritante de mucosas, piel y vías respiratorias. La aireación posterior a la esterilización implica tiempos de cuarentena prolongados.

La esterilización con óxido de etileno no es compatible con soluciones acuosas ni grasas; sin embargo, está documentada la esterilización por óxido de etileno de drogas en polvo alterables por radio-esterilización.

Esterilización con plasma de peróxido de hidrógeno

Es un procedimiento de esterilización que se basa en la oxidación de moléculas biológicas mediante el plasma generado por acción de energía de radiofrecuencia, utilizando como precursor vapor de peróxido de hidrógeno, a baja temperatura y a presión subatmosférica. El vapor de peróxido de hidrógeno se disocia en la etapa de plasma del ciclo de esterilización en radicales libres y otras especies microbicidas activas. Tras la etapa de plasma se recombinan los radicales libres en forma de moléculas estables, dando origen en su mayor parte a agua y oxígeno.

Los esterilizadores poseen un catalizador que descompone el peróxido de hidrógeno para el tratamiento de los gases descargados de la cámara, garantizando de este modo una emisión ambiental controlada para el operador.

Los parámetros críticos del proceso son concentración de peróxido de hidrógeno en cámara, energía de radiofrecuencia, presión y tiempo en las etapas de difusión de la solución de peróxido de hidrógeno y de generación de plasma.

El proceso es corto, no deja residuos tóxicos, y permite esterilizar a temperaturas iguales o menores de 50 °C.

El producto a procesar debe estar perfectamente seco, existiendo restricciones de difusión del agente esterilizante con respecto a los lúmenes; es incompatible con celulosa, polvos y líquidos.

Esterilización con vapor a baja temperatura y formaldehído

El método basa su acción esterilizante en la actividad alquilante del formaldehído, sustancia que reacciona inactivando grupos químicos esenciales de los ácidos nucleicos y proteínas de los microorganismos, en sinergismo con vapor de agua a presión subatmosférica.

Los parámetros críticos del proceso son temperatura, concentración del formaldehído, humedad relativa porcentual y tiempo de esterilizado.

Básicamente el proceso consiste en realizar vacíos fraccionados alternados con inyecciones de solución de formaldehído, eliminando así el aire de la cámara y facilitando la penetración completa y reproducible del agente esterilizante en la carga.

En la etapa de esterilizado el producto permanece en contacto con el agente esterilizante a presión y temperatura constantes el tiempo especificado para el proceso; por último se procede a la eliminación o lavado con vapor de agua de los residuos del agente químico del producto y de los empaques, seguido del secado final del producto.

Controles de proceso

- temperatura de la cámara,
- control directo de la concentración del formaldehído,
- tiempo de esterilizado,
- indicador químico de proceso e indicador biológico.

La temperatura del ciclo oscila en general entre 60 y 80 °C

La validación del proceso exige requisitos adicionales a los necesarios para procesos basados en la acción del calor; tales como la caracterización estricta de las variaciones de presión en cámara a lo largo de las distintas etapas del ciclo, la medición de la concentración de gas en la etapa de esterilización, y la determinación de las condiciones de aireación de los productos esterilizados

Finalizado el proceso, quedan residuos de formaldehído y sustancias de reacción aún

detectables en los productos, no estando aún claramente definidos los límites máximos permitidos.

El método no es compatible con soluciones, grasas ni polvos.

La emisión ambiental debe estar controlada, por tratarse de una sustancia cancerígena e irritante.

Almacenamiento

La vida útil de los productos médicos estériles estará determinada por el envejecimiento de los componentes y por la integridad de su envase, por lo que el almacenamiento debe realizarse de manera que se preserve la integridad del mismo, respetando las condiciones ambientales indicadas por el fabricante.

El riesgo de daño del envase se relaciona con el cuidado en la manipulación del mismo durante la esterilización, el transporte y el almacenamiento.

Indicadores biológicos

Los indicadores biológicos son preparaciones normalizadas de microorganismos seleccionados que se utilizan para valorar la eficacia de los procedimientos de esterilización. Habitualmente se presentan bajo la forma de una población de esporas bacterianas dispuestas sobre un soporte inerte o portador (disco o tira de papel de filtro, vidrio, o plástico). Pueden emplearse también indicadores biológicos con más de una especie de bacteria sobre un mismo soporte. El portador inoculado se encuentra dentro de un empaque o envase primario que lo protege de cualquier deterioro o contaminación, pero que permite el pasaje del agente esterilizante.

En otras presentaciones el indicador biológico se presenta en un envase primario autocontenido que incluye un medio de cultivo estéril; en este caso el diseño del envase ofrece mínima resistencia al paso del agente esterilizante.

En ambos casos los envases primarios se vehiculizan en un envase secundario de forma que los bioindicadores puedan ser transportados y almacenados en condiciones adecuadas. En el rótulo de los indicadores biológicos deberá figurar el nombre del organismo de ensayo empleado como microorganismo de referencia, el nombre o abreviatura de la colección de cultivo y el número de referencia de la especie, el número de lote, la indicación del método de esterilización para el cual el indicador biológico puede ser utilizado, el número de esporas viables por transportador, datos

de la resistencia del microorganismo de ensayo y la fecha de vencimiento.

El fabricante del bioindicador debe además suministrar con el producto instrucciones de uso, incluyendo las condiciones para la recuperación de los organismos en ensayo después del proceso de esterilización y las instrucciones para su disposición final.

Una tercera forma de bioindicadores la constituyen suspensiones de esporas que se incorporan a unidades representativas del producto a esterilizar, o en su defecto a productos simulados. A estos bioindicadores se los llama productos inoculados, preparados a partir de suspensiones de esporas de población y resistencia conocida.

La elección del organismo indicador para el método de esterilización se realiza de acuerdo a los siguientes requisitos:

- Resistencia elevada de la cepa de ensayo al método de esterilización previsto, en comparación a la resistencia de todos los microorganismos patógenos y de los que pueden producir contaminación en el producto.

- La cepa de ensayo no debe ser patógena.

- La cepa de ensayo debe poder cultivarse con facilidad.

Se recomienda que se coloquen los indicadores biológicos en los lugares menos accesibles al agente esterilizante y bajo las mismas condiciones de empaque que el material a procesar.

Después de la incubación, la existencia de crecimiento de los microorganismos de referencia que han sido sometidos al proceso de esterilización demuestra que dicho procedimiento ha sido ineficiente.

- Para esterilización por vapor se recomienda el uso de las esporas de *Geobacillus stearothermophilus*, ATCC 7953. El número de esporas viables por soporte debe ser no menor de 1×10^5 y el valor de D a 121°C superior a 1,5 minutos. Se debe verificar que luego de la exposición de los indicadores al calor húmedo a $121 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 6 minutos queden esporas capaces de germinar y que no haya crecimiento del microorganismo de referencia después que los indicadores biológicos hayan sido expuestos al agente esterilizante durante 15 minutos.

- En el caso de la esterilización por calor seco, se recomiendan las esporas de *Bacillus atrophaeus* ATCC 9372. El número de esporas viables por soporte debe ser no menor de 1×10^5 y el valor D a 160°C debe estar comprendido entre 5 y 10 minutos.

- Cuando se utiliza radiación ionizante, los indicadores utilizados contienen esporas de *Bacillus pumilus* (ATCC27.142, NCTC 10327, NCIMB 110692 o CIP 77.25). El número de esporas por soporte debe ser mayor de 1×10^7 y el valor de *D* mayor a 1,9 kGy. Se debe comprobar que no haya crecimiento de los microorganismos de referencia luego de una exposición de los indicadores biológicos a 25 kGy (dosis mínima absorbida).

- Para el sistema de *Esterilización por Plasma de peróxido de hidrógeno* se recomienda el uso de esporas de *Geobacillus stearothermophilus*, ATCC 7953.

- En el caso de esterilización por óxido de etileno se recomiendan las esporas de *Bacillus atrophaeus* ATCC 9372. El número de esporas viables por soporte debe ser superior a 1×10^6 (valores de población nominal mínima para uso en monitoreos de rutina; para ensayos de validación o aplicaciones especiales puede requerirse

poblaciones nominales mayores) y el valor *D* no debe ser menor de 12,5 minutos cuando se expongan a 600 ± 30 mg/l de óxido de etileno, 60 ± 10 % de humedad relativa y 30 ± 1 °C, y/o 2,5 minutos cuando se expongan a 600 ± 30 mg/l de óxido de etileno, 60 ± 10 % de humedad relativa y 54 ± 1 °C.

- Cuando se utiliza el *Vapor a baja temperatura con formaldehído* se recomienda el uso de esporas de *Geobacillus stearothermophilus*, NCBI 8224, DSM 6790, ATCC 7953, ATCC 10149 y ATCC 12980. El número de esporas viables por soporte debe ser mayor de 1×10^5 .

Ensayo de Esterilidad

Proceder según se indica en 370. *Ensayos de Esterilidad*.

590. LÍMITE DE METALES PESADOS

Este ensayo se emplea para establecer que el contenido de impurezas metálicas que reaccionan con el ión sulfuro, bajo las condiciones especificadas, no excede el *Límite de metales pesados* especificado en la monografía correspondiente, expresado como porcentaje (en peso) de plomo en la sustancia en ensayo, determinado mediante comparación visual (ver *Comparación visual* en *Consideraciones generales*) con un control preparado a partir de una *Solución estándar de plomo*.

[NOTA: los cationes que generalmente responden a este ensayo son: plomo, mercurio, bismuto, arsénico, antimonio, estaño, cadmio, plata, cobre y molibdeno.]

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, emplear el *Método I*.

Reactivos especiales

Solución madre de nitrato de plomo - Disolver 159,8 mg de nitrato de plomo en 100 ml de agua a la cual se le ha agregado 1 ml de ácido nítrico y diluir a 1 litro con agua. Preparar y almacenar esta solución en envases de vidrio exentos de sales de plomo solubles.

Solución estándar de plomo (100 ppm) - Disolver 400 mg de nitrato de plomo en agua y diluir a 250 ml con el mismo solvente. En el día del ensayo, diluir 1 ml de esta solución a 10 ml con agua.

Solución estándar de plomo (10 ppm) - En el día del ensayo, diluir 10,0 ml de *Solución madre de nitrato de plomo* a 100,0 ml con agua. Cada ml de *Solución estándar de plomo (10 ppm)* contiene el equivalente a 10 µg de plomo. Una solución de comparación preparada sobre la base de 100 µl de *Solución estándar de plomo (10 ppm)* por g de muestra contiene el equivalente a 1 ppm de plomo.

Solución estándar de plomo (2 ppm) - En el día del ensayo, diluir 1,0 ml de *Solución estándar de plomo (100 ppm)* a 50,0 ml con agua. Cada ml de *Solución estándar de plomo (2 ppm)* contiene el equivalente a 2,0 µg de plomo.

Solución estándar de plomo (1 ppm) - En el día del ensayo, diluir 1,0 ml de *Solución estándar de plomo (100 ppm)* a 100,0 ml con agua. Cada ml de *Solución estándar de plomo (1 ppm)* contiene el equivalente a 1,0 µg de plomo.

Solución estándar de plomo (0,1 ppm) - En el día del ensayo, diluir 1,0 ml de *Solución estándar de plomo (1 ppm)* a 10 ml con agua. Cada ml de *Solución estándar de plomo (0,1 ppm)* contiene el equivalente a 0,1 µg de plomo.

[NOTA: siempre que en una monografía individual aparezca la denominación *Solución estándar de plomo* sin ninguna especificación de concentración, se debe emplear la *Solución estándar de plomo (10 ppm)*.]

Método I

Solución reguladora de acetato pH 3,5 - Disolver 50 g de acetato de amonio en 100 ml de ácido clorhídrico 6 N, ajustar a pH 3,5, si fuera necesario, con hidróxido de amonio 6 N o ácido clorhídrico 6 N y diluir con agua a 200 ml.

Solución estándar - Transferir 2 ml de *Solución estándar de plomo (10 ppm)*, correspondientes a 20 µg de Pb, a un tubo de Nessler de 50 ml y diluir con agua a 25 ml. Ajustar a pH entre 3,0 y 4,0 con ácido acético 1 N o hidróxido de amonio 6 N, empleando papel indicador de pH, diluir con agua a 40 ml y mezclar.

Solución muestra - Transferir 25 ml de la solución preparada para el ensayo según se indica en la monografía correspondiente a un tubo de Nessler de 50 ml. Alternativamente, cuando se indique en la monografía correspondiente, emplear el volumen de ácido indicado, disolver la cantidad en g de muestra, calculada por la fórmula siguiente:

$$2,0/(1.000L)$$

en la cual *L* es el *Límite de metales pesados*, en porcentaje. Diluir a 25 ml con agua y ajustar a pH entre 3,0 y 4,0 con ácido acético 1 N o hidróxido de amonio 6 N, empleando papel indicador de pH, diluir a 40 ml con agua y mezclar.

Solución control - Transferir 25 ml de una solución preparada según se indica para la *Solución muestra* a un tercer tubo de Nessler de 50 ml y agregar 2,0 ml de *Solución estándar de plomo (10 ppm)*. Ajustar a pH entre 3,0 y 4,0 con ácido acético 1 N o hidróxido de amonio 6 N, empleando papel indicador de pH, diluir a 40 ml con agua y mezclar.

Procedimiento - A cada uno de los tubos que contienen la *Solución estándar*, la *Solución muestra* y la *Solución control*, respectivamente, agregar 1,2 ml de tioacetamida-glicerina básica (SR) y 2 ml de *Solución reguladora de acetato de pH 3,5*, diluir a 50 ml con agua, mezclar, dejar reposar durante 5 minutos y observar longitudinalmente sobre una superficie blanca: el color de la solución obtenida a partir de la *Solución muestra* no debe ser más oscuro que el de la obtenida a partir de la *Solución estándar* y la intensidad del color de la *Solución*

control debe ser igual o mayor que la de la *Solución estándar*.

[NOTA: si el color de la *Solución control* es más claro que el de la *Solución estándar*, emplear el *Método II*.]

Método II

Solución reguladora de acetato pH 3,5 - Preparar según se indica en *Método I*.

Solución estándar - Preparar según se indica en *Método I*.

Solución muestra - Emplear una cantidad en g de muestra calculada por la fórmula siguiente:

$$2,0/(1.000L)$$

en la cual *L* es el *Límite de metales pesados*, en porcentaje. Transferir la cantidad de muestra pesada a un crisol, agregar suficiente ácido sulfúrico para impregnar la sustancia y someter cuidadosamente a ignición hasta que la sustancia se carbonice por completo. [NOTA: cubrir el crisol parcialmente durante la carbonización.] Agregar a la masa carbonizada 2 ml de ácido nítrico y 5 gotas de ácido sulfúrico y calentar con cuidado hasta que no se desprendan vapores blancos. Someter a ignición, en una mufla, entre 500 y 600 °C, hasta que el residuo carbonoso desaparezca. Dejar enfriar a temperatura ambiente. Agregar 4 ml de ácido clorhídrico 6 N, tapar el crisol y transferir a un baño de vapor durante 15 minutos. Destapar y evaporar lentamente hasta sequedad. Agregar al residuo 1 gota de ácido clorhídrico, 10 ml de agua caliente y digerir durante 2 minutos. Agregar hidróxido de amonio 6 N, gota a gota, hasta que la solución sea alcalina frente al papel de tornasol, diluir a 25 ml con agua y ajustar a pH entre 3,0 y 4,0 con ácido acético 1 N empleando papel indicador de pH de intervalo estrecho. Filtrar, si fuera necesario, lavar el crisol y el filtro con 10 ml de agua, combinar el filtrado y el agua de lavado en un tubo de Nessler de 50 ml, diluir a 40 ml con agua y mezclar.

Procedimiento - A cada uno de los tubos que contienen la *Solución estándar* y la *Solución muestra*, respectivamente, agregar 1,2 ml de tioacetamida-glicerina básica (SR) y 2 ml de *Solución reguladora de acetato pH 3,5*, diluir a 50 ml con agua, mezclar, dejar reposar durante 5 minutos y observar longitudinalmente sobre una superficie blanca: el color de la solución obtenida a partir de la *Solución muestra* no debe ser más oscuro que el de la solución obtenida a partir de la *Solución estándar*.

Método III

Solución reguladora de acetato pH 3,5 - Preparar según se indica en *Método I*.

Solución estándar - Transferir una mezcla de 8 ml de ácido sulfúrico y 10 ml de ácido nítrico a un

matraz de Kjeldahl de 100 ml. Agregar un volumen adicional de ácido nítrico igual al agregado a la *Solución muestra*. Calentar la solución hasta desprendimiento de vapores densos y blancos, enfriar y agregar con cuidado 10 ml de agua. Si se empleó peróxido de hidrógeno al 30 % al tratar la *Solución muestra*, agregar el mismo volumen de peróxido de hidrógeno y calentar a ebullición suavemente hasta que se desprendan vapores densos y blancos. Enfriar a temperatura ambiente, agregar con cuidado 5 ml de agua, mezclar y calentar a ebullición suavemente hasta la producción de vapores blancos y obtener un volumen de 2 a 3 ml. Enfriar, diluir con cuidado con 2 a 5 ml de agua, agregar 2,0 ml de *Solución estándar de plomo (10 ppm)*, correspondientes a 20 µg de Pb, y mezclar. Transferir a un tubo de Nessler de 50 ml, lavar el matraz con agua, agregando los lavados al tubo hasta completar un volumen de 25 ml y mezclar.

Solución muestra -

Si la sustancia es sólida - Transferir la cantidad de muestra especificada en la monografía correspondiente a un matraz de Kjeldahl de 100 ml. [NOTA: emplear un matraz de 300 ml si la reacción genera espuma en exceso.] Inclinar el matraz a 45° y agregar, con cuidado, cantidad suficiente de una mezcla de 8 ml de ácido sulfúrico y 10 ml de ácido nítrico para impregnar la muestra. Calentar suavemente hasta que la reacción comience, dejar que la reacción disminuya y agregar porciones adicionales de la misma mezcla hasta un volumen final de 18 ml. Calentar suavemente a ebullición hasta que la solución se oscurezca. Enfriar a temperatura ambiente, agregar 2 ml de ácido nítrico y calentar nuevamente hasta que la solución se oscurezca. Continuar calentando luego del agregado de ácido nítrico hasta que la mezcla no presente oscurecimiento. Luego calentar fuertemente hasta la producción de vapores densos y blancos. Enfriar, agregar con cuidado 5 ml de agua, calentar suavemente a ebullición hasta la producción de vapores densos, blancos y continuar calentando hasta que el volumen se reduzca a unos pocos ml. Enfriar a temperatura ambiente, agregar con cuidado 5 ml de agua y examinar el color de la solución. Si el color es amarillo, agregar con cuidado 1 ml de peróxido de hidrógeno al 30 % y nuevamente evaporar hasta la producción de vapores blancos y obtener un volumen de 2 a 3 ml. Si la solución sigue siendo amarilla, agregar 5 ml de agua y repetir el tratamiento con peróxido de hidrógeno. Enfriar, diluir con cuidado con 2 a 5 ml de agua, lavar y transferir a un tubo de Nessler de 50 ml, teniendo cuidado que el volumen total no exceda los 25 ml.

Si la sustancia es líquida - Transferir la cantidad de muestra especificada en la monografía

correspondiente a un matraz de Kjeldahl de 100 ml. [NOTA: emplear un matraz de 300 ml si la reacción genera espuma en exceso.] Inclinar el matraz a 45° y agregar, con cuidado, unos pocos ml de una mezcla de 8 ml de ácido sulfúrico y 10 ml de ácido nítrico. Calentar suavemente hasta que la reacción comience, dejar que la reacción disminuya y proceder según se indica en *Si la sustancia es un sólido*, comenzando donde dice "agregar porciones adicionales de la misma mezcla hasta un volumen final de 18 ml..".

Procedimiento - Tratar la *Solución muestra* y la *Solución estándar* del siguiente modo: ajustar a pH entre 3,0 y 4,0, empleando papel indicador de pH de intervalo estrecho, con hidróxido de amonio (puede emplearse una solución de amoníaco diluido, cuando el intervalo especificado es estrecho), agregar agua hasta 40 ml y mezclar. Agregar a cada tubo 1,2 ml de tioacetamida-glicerina básica (SR) y 2 ml de *Solución reguladora de acetato pH 3,5*, diluir a 50 ml con agua, mezclar, dejar reposar durante 5 minutos y observar longitudinalmente sobre una superficie blanca: el color de la *Solución muestra* no debe ser más oscuro que el de la *Solución estándar*.

Método IV

Solución reguladora de acetato pH 3,5 - Preparar según se indica en *Método I*.

Solución estándar - A 10 ml de *Solución estándar de plomo (1 ppm)* o *Solución estándar de plomo (2 ppm)*, según se indique en la monografía correspondiente, agregar 2 ml de *Solución muestra* y mezclar.

Solución muestra - Preparar según se indica en la monografía correspondiente. Emplear 12 ml de esta solución.

Solución control - A 10 ml de agua agregar 2 ml de la *Solución muestra* y mezclar.

Procedimiento - A cada uno de los tres tubos que contienen la *Solución estándar*, la *Solución muestra* y la *Solución control*, respectivamente, agregar 2 ml de *Solución reguladora de acetato pH 3,5* y 1,2 ml de tioacetamida-glicerina básica (SR) y mezclar: la *Solución estándar* debe presentar una ligera coloración parda cuando se compara con la *Solución control*. Dejar reposar durante aproximadamente 2 minutos: si la *Solución muestra* presentase coloración parda, esta no debe ser más intensa que la de la *Solución estándar*.

Método V

Solución reguladora de acetato pH 3,5 - Preparar según se indica en *Método I*.

Solución estándar - A 10 ml de una solución de plomo de 1 ó 2 ppm, según se indique en la monografía correspondiente, preparada a partir de la

Solución estándar de plomo (100 ppm) por dilución con el solvente especificado para preparar la *Solución muestra*, agregar 2 ml de *Solución muestra* y mezclar.

Solución muestra - Disolver la cantidad de sustancia a examinar en un solvente orgánico (dioxano, acetona, etc.) que contenga un mínimo porcentaje de agua (15 %), procediendo según se indica en la monografía correspondiente. Emplear 12 ml de esta solución.

Solución control - A 10 ml del solvente empleado para preparar la *Solución muestra* agregar 2 ml de *Solución muestra* y mezclar.

Procedimiento - Proceder según se indica para *Método IV*. La *Solución estándar* debe presentar una ligera coloración parda cuando se compara con la *Solución control*. Dejar reposar durante aproximadamente 2 minutos: si la *Solución muestra* presentase coloración parda, esta no debe ser más intensa que la de la *Solución estándar*.

Método VI

Solución reguladora de acetato pH 3,5 - Preparar según se indica en *Método I*.

Solución estándar - Mezclar 4 ml de una solución de sulfato de magnesio al 25 % en ácido sulfúrico diluido y el volumen de *Solución estándar de plomo (10 ppm)* especificado en la monografía correspondiente. Mezclar con una varilla de vidrio y calentar cuidadosamente. Si la mezcla es líquida, evaporar suavemente sobre un baño de agua hasta sequedad. Calentar hasta calcinación para obtener un residuo prácticamente blanco, o a lo sumo grisáceo, sin que la temperatura supere los 800 °C. Dejar secar y humedecer el residuo obtenido con unas gotas de ácido sulfúrico diluido. Evaporar y calcinar nuevamente y luego enfriar. [NOTA: la duración total de la calcinación no debe ser mayor de 2 horas]. Recuperar el residuo empleando dos porciones de 5 ml de ácido clorhídrico diluido, agregar 0,1 ml de fenoftaleína (SR1) y luego amoníaco concentrado hasta coloración rosada. Enfriar, agregar ácido acético glacial hasta decoloración y luego agregar 0,5 ml en exceso. Si fuera necesario, filtrar y lavar el filtro. Diluir esta solución a 20 ml con agua. Transferir 10 ml de esta solución a un tubo de ensayo y agregar 2 ml de *solución muestra*.

Solución muestra - Introducir la cantidad de sustancia a examinar según se especifique en la monografía correspondiente (como máximo 2 g) en un crisol de sílice y agregar 4 ml de una solución de sulfato de magnesio al 25 % en ácido sulfúrico diluido. Proceder según se indica para la *Solución estándar*, comenzando donde dice "Mezclar con una varilla fina..." hasta "Diluir esta solución a 20 ml con agua". Emplear 12 ml de esta solución.

Solución control - A 10 ml de agua agregar 2 ml de la *Solución muestra* y mezclar.

Procedimiento - Proceder según se indica para *Método IV*. La *Solución estándar* debe presentar una ligera coloración parda cuando se compara con la *Solución control*. Dejar reposar durante aproximadamente 2 minutos: si la *Solución muestra* presentase coloración parda, esta no debe ser más intensa que la de la *Solución estándar*.

Método VII

Solución reguladora de acetato pH 3,5 - Preparar según se indica en *Método I*.

Solución estándar - A 0,5 g de óxido de magnesio, agregar la cantidad de *Solución estándar de plomo (10 ppm)* según se especifique en la monografía correspondiente y secar en estufa entre 100 y 105 °C. Calcinar hasta obtener una masa homogénea blanco o blanco-grisacea. Si luego de 30 minutos de calcinación la masa permanece coloreada, dejar enfriar, mezclar con una varilla fina de vidrio y calcinar nuevamente. Si fuera necesario, repetir esta operación. Calentar a 800 °C durante 1 hora y recuperar el residuo empleando dos porciones de 5 ml de una mezcla de agua y ácido clorhídrico al 25 % p/v (1:1). Agregar 0,1 ml de fenoltaleína (SR1) y luego amoniaco concentrado hasta coloración rosada. Enfriar, agregar ácido acético glacial hasta decoloración y luego agregar 0,5 ml en exceso. Si fuera necesario, filtrar y lavar el filtro. Diluir esta solución a 20 ml con agua. Transferir 10 ml de esta solución a un tubo de ensayo y agregar 2 ml de *Solución muestra*.

Solución muestra - Introducir la cantidad de sustancia a examinar según se especifique en la monografía correspondiente en un crisol de sílice y mezclar con 0,5 g de óxido de magnesio. Proceder según se indica para la *Solución estándar*, comenzando donde dice "Calcinar hasta obtener una masa homogénea..." hasta "Diluir esta solución a 20 ml con agua". Emplear 12 ml de esta solución.

Solución control - A 10 ml de agua agregar 2 ml de la *Solución muestra* y mezclar.

Procedimiento - Proceder según se indica para *Método IV*. La *Solución estándar* debe presentar una ligera coloración parda cuando se compara con la *Solución control*. Dejar reposar durante aproximadamente 2 minutos: si la *Solución muestra* presentase coloración parda, esta no debe ser más intensa que la de la *Solución estándar*.

Método VIII

Solución reguladora de acetato pH 3,5 - Preparar según se indica en *Método I*.

Aparato - Preparar el dispositivo de filtración indicado en la *Figura*, adaptando el tubo de una jeringa de 50 ml, sin su émbolo, a un portafiltros que contenga una membrana filtrante de unos 13 mm de diámetro y 3 µm de tamaño de poro y sobre esta, un prefiltro del mismo diámetro.

Solución estándar - Transferir el volumen de *Solución estándar de plomo (1 ppm)* según se especifique en la monografía correspondiente al tubo de la jeringa, colocar el émbolo y aplicar una presión uniforme hasta haber filtrado todo el líquido. Abrir el portafiltros, retirar el prefiltro y comprobar que la membrana filtrante no esté contaminada con impurezas. Si la membrana estuviese contaminada, reemplazarla y repetir la filtración en las mismas condiciones.

Solución muestra - Disolver la cantidad de sustancia a examinar según se especifique en la monografía correspondiente, en 30 ml de agua o el volumen indicado en la monografía correspondiente. Proceder según se indica para la *Solución estándar*.

Procedimiento - Agregar 2 ml de *Solución reguladora de acetato pH 3,5* y 1,2 ml de tioacetamida-glicerina básica (SR), al filtrado o al volumen especificado del mismo de la *Solución muestra*. Mezclar, dejar en reposo durante 10 minutos y filtrar nuevamente pero invirtiendo las posiciones del prefiltro y la membrana filtrante, de modo que el líquido pase primero por la membrana filtrante y luego por el prefiltro [NOTA: esta operación debe realizarse lenta y uniformemente, aplicando una presión moderada y constante sobre el émbolo de la jeringa]. Luego de haber filtrado todo el líquido, abrir el portafiltros, retirar la membrana filtrante y secar con papel de filtro. Proceder del mismo modo con la *Solución estándar*. El color de la mancha obtenida a partir de la *Solución muestra* no debe ser más intenso que el obtenido con la *Solución estándar*.

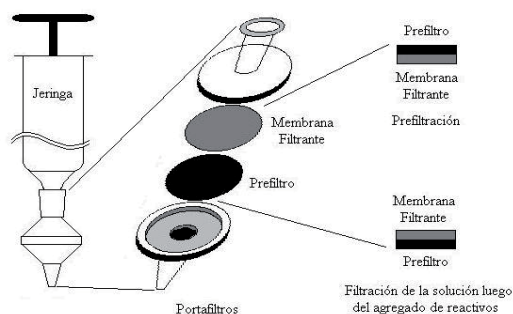


Figura. Dispositivo para prefiltrar y filtrar las soluciones de ensayo. Vista de la disposición del prefiltro y la membrana filtrante en las diferentes etapas del ensayo.

625. MÉTODOS DE ANÁLISIS PARA GASES MEDICINALES

DEFINICIONES

Gas blanco - Gas o mezcla de gases empleado para realizar el ajuste de cero en la calibración de los instrumentos analíticos.

Gas estándar - Gas o mezcla de gases empleado para realizar el ajuste de la escala en la calibración de los instrumentos analíticos.

SUSTANCIAS DE REFERENCIA

Dióxido de Carbono SR-FA - CO_2 - (PM: 44,0) - [124-38-9] - Contiene no menos de 99,995 % v/v de CO_2 , menos de 5 ppm de Monóxido de Carbono y menos de 25 ppm de Oxígeno.

Monóxido de Carbono SR-FA - CO - (PM: 28,0) - [630-08-0] - Contiene no menos de 99,97 % v/v de CO .

Monóxido de Nitrógeno SR-FA - NO - (PM: 30,0) - [10102-43-9] - Contiene no menos de 98,0% v/v de NO .

Nitrógeno SR-FA - N_2 - (PM: 28,01) - [7727-37-9] - Contiene no menos de 99,999 % v/v de N_2 , menos de 0,5 ppm de Monóxido de Carbono y Dióxido de Carbono y menos de 5 ppm de Oxígeno.

Oxido Nitroso SR-FA - N_2O - (PM: 44,01) - [10024-97-2] - Contiene no menos de 99,99 % v/v de N_2O , menos de 1 ppm de Monóxido de Nitrógeno y menos de 1 ppm de Monóxido de Carbono.

Oxígeno SR-FA - O_2 - (PM: 32,00) - [7782-44-7] - Contiene no menos de 99,99 % v/v de O_2 , menos de 100 ppm de Nitrógeno y Argón, menos de 10 ppm de Dióxido de Carbono y menos de 0,5 ppm de Monóxido de Carbono.

Mezcla que contenga 300 ppm v/v de Dióxido de Carbono SR-FA en Nitrógeno SR-FA - Se emplea para la determinación de Dióxido de Carbono en Oxígeno por analizador infrarrojo.

Mezcla que contenga 300 ppm v/v de Dióxido de Carbono SR-FA en Óxido Nitroso SR-FA - Se emplea para la determinación de Dióxido de Carbono en Óxido Nitroso por cromatografía de gases.

Mezcla que contenga 5 ppm v/v de Monóxido de Carbono SR-FA en Nitrógeno SR-FA - Se emplea para la determinación de Monóxido de Carbono en Oxígeno por analizador infrarrojo.

Mezcla que contenga 5 ppm v/v de Monóxido de Carbono SR-FA en Óxido Nitroso SR-FA - Se emplea para la determinación de Monóxido de Carbono en Óxido Nitroso por cromatografía de gases.

Mezcla que contenga 2 ppm de Monóxido de Nitrógeno SR-FA en Nitrógeno SR-FA - Se emplea

para la determinación de Óxidos de Nitrógeno en Óxido Nitroso por quimioluminiscencia.

MÉTODOS DE ANÁLISIS

Analizador Paramagnético Para Oxígeno

Se emplea para determinar el contenido de oxígeno en gases medicinales.

El fundamento del método se basa en la propiedad que exhibe la molécula de oxígeno de ser fuertemente paramagnética. El oxígeno gaseoso se mide en base a la fuerza magnética que actúa sobre un cuerpo de prueba suspendido en un campo magnético no uniforme, cuando dicho cuerpo está rodeado por la muestra de gas. Dicha fuerza puede medirse electrónicamente y, una vez amplificada y transformada, proporciona la concentración de oxígeno en la muestra gaseosa.

La medida de la concentración de oxígeno es dependiente de la presión y de la temperatura. Por lo tanto, el analizador debe calibrarse antes del uso, si el instrumento no compensa automáticamente las variaciones de estos parámetros. El instrumento debe permitir determinar el nivel de oxígeno con una sensibilidad mínima de 0,1 %.

Calibración del instrumento -

Ajustar el cero de acuerdo a las instrucciones del fabricante, pasando Nitrógeno SR-FA a un caudal apropiado hasta obtener una lectura estable.

Ajustar la amplitud de la escala de acuerdo a las instrucciones del fabricante, pasando el gas estándar a un caudal adecuado hasta obtener una lectura estable. Utilizar aire estándar u oxígeno estándar, según corresponda.

Valoración -

Passar el gas en ensayo en las mismas condiciones en las que fuera calibrado el instrumento hasta tener una lectura estable. Determinar el contenido de oxígeno en el gas en ensayo.

Higrómetro Electrolítico

Se emplea para determinar el contenido de vapor de agua en gases medicinales.

La celda electrolítica de medición está provista de dos electrodos de alambre de platino, en forma de espiral, entrelazados y aislados entre sí, recubiertos por una capa delgada de pentóxido de fósforo. El pentóxido de fósforo es altamente higroscópico y reacciona con el vapor de agua contenido en el gas en ensayo. A continuación, se aplica un voltaje continuo a través de los electrodos, lo que produce la electrólisis del agua y una regeneración del

pentóxido de fósforo. Durante la electrólisis, se mide la corriente eléctrica que, de acuerdo con las leyes de Faraday, resulta proporcional al contenido de agua en el gas; no se requiere entonces calibración contra estándar de humedad.

Analizador de Quimioluminiscencia

Se emplea para determinar el contenido total de monóxido de nitrógeno y dióxido de nitrógeno en gases medicinales.

El instrumento consta de los siguientes componentes:

- Un dispositivo para filtrar, controlar y regular el flujo del gas bajo análisis.
- Un convertidor que reduce el dióxido de nitrógeno a monóxido de nitrógeno, para determinar el contenido total de monóxido y dióxido de nitrógeno. La eficiencia del convertidor debe ser controlada antes de usar.
- Un generador de ozono de caudal controlado. El ozono se produce por descargas de corriente eléctrica de alto voltaje a través de dos electrodos. El generador de ozono se alimenta con oxígeno puro, o con aire ambiental deshidratado. Para asegurar que la reacción se lleve a cabo en forma cuantitativa, la concentración de ozono debe ser muy superior de 2 ppm, máxima

cantidad de óxidos de nitrógeno permitidos en la muestra.

- Una cámara de reacción de monóxido de nitrógeno y ozono.
- Un sistema para la detección de la luz emitida, consistente en un filtro óptico selectivo de $1,2 \mu\text{m}$ de longitud de onda y un tubo fotomultiplicador.

El gas bajo análisis ingresa a un caudal constante, previo paso por el filtro de partículas, en la cámara de reacción, donde se mezcla con un exceso de ozono. Allí se forma la especie excitada NO^* que, al decaer a su estado fundamental de energía, emite una radiación cuya intensidad es proporcional a la cantidad de monóxido de nitrógeno presente en la muestra. La energía luminosa se transforma en una señal eléctrica por medio de un sistema de filtro y fotomultiplicador.

El resultado obtenido debe multiplicarse por un factor de corrección debido al efecto de atenuación que causa la matriz de óxido nitroso en la señal luminiscente. Dicho factor se determina empleando una mezcla de referencia de monóxido de nitrógeno en óxido nitroso, comparando el contenido de la mezcla con la lectura indicada por el analizador.

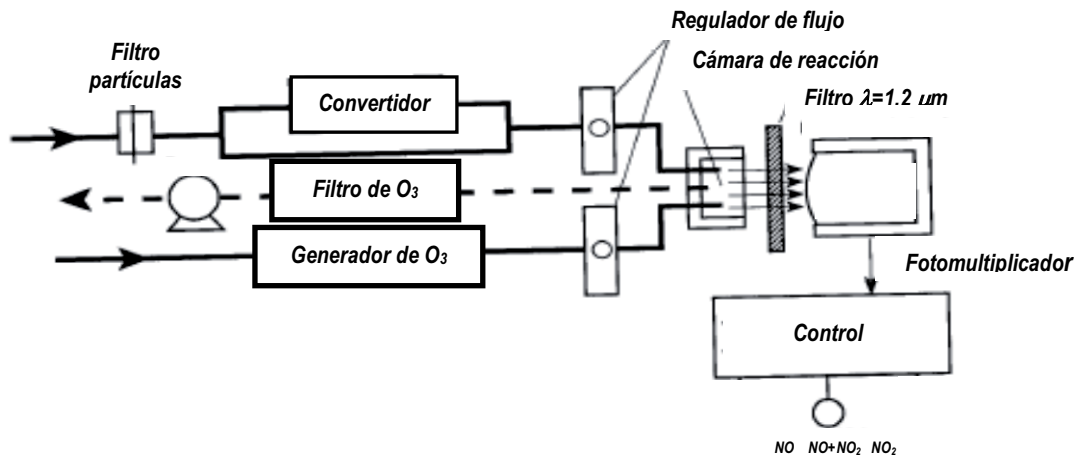


Figura 1. Analizador de Quimioluminiscencia

Analizador Infrarrojo

La fuente de radiación infrarroja posee un sistema para generar dos haces idénticos: uno atraviesa la celda por la que fluye el gas bajo análisis y el otro la celda de referencia, que contiene Nitrógeno SR-FA.

Este sistema de detección se basa en la medida de la diferencia de presión entre dos cámaras para gases, separadas por un diafragma metálico. Ambas cámaras contienen Dióxido de Carbono SR-FA o Monóxido de Carbono SR-FA, según se proceda al ensayo de uno u otro gas en la muestra.

La absorción de radiación infrarroja produce calor y consecuentemente un aumento de presión en las cámaras del detector. Debido a que la absorción de energía radiante por parte del Dióxido o Monóxido de Carbono contenido en la celda de la muestra y del Nitrógeno contenido en la celda de referencia es distinta, la presión en ambas cámaras

del detector será diferente. Esta diferencia de presión provoca la distensión del diafragma que las separa. El diafragma es parte de un capacitor, cuya capacitancia varía con la diferencia de presión, la que depende del contenido de dióxido de carbono o de monóxido de carbono en el gas en ensayo.

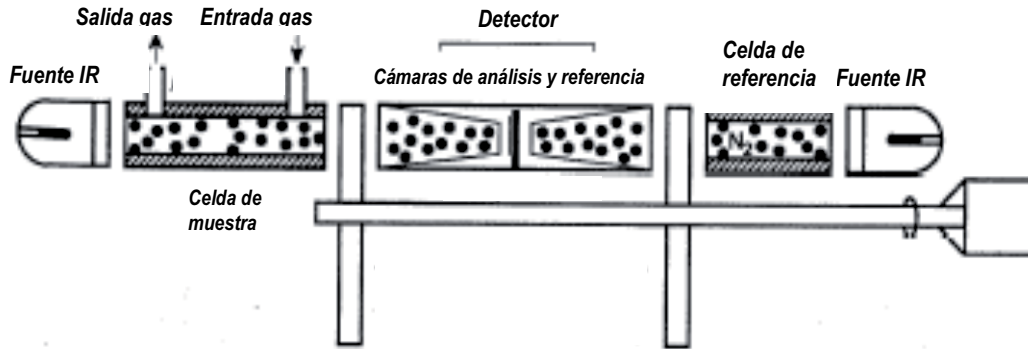


Figura 2. Analizador infrarrojo

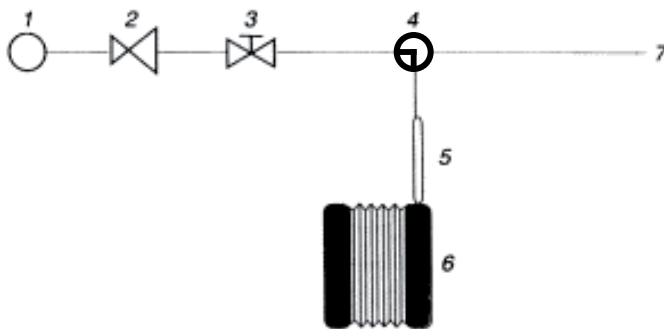
Tubos Detectores de Gases

Son tubos cilíndricos, de diámetro interior constante, de vidrio u otro material inerte y transparente, cerrados herméticamente y construidos de modo de permitir el paso de los gases en ensayo. Cada tubo detector contiene una cantidad precisa de los reactivos apropiados, adsorbidos sobre sustratos inertes adecuados para la visualización directa de la sustancia a detectar. De ser necesario, también pueden contener capas previas a la reactiva y/o filtros adsorbentes, con el fin de eliminar las interferencias. La capa de indicador puede contener un único o bien varios reactivos para la detección de una o

varias sustancias (tubos monocapa o multicapa). El ensayo se realiza haciendo pasar el volumen necesario del gas a analizar a través del tubo indicador. La longitud de la capa coloreada o la intensidad del cambio de color sobre una escala graduada da información sobre cantidad de sustancia presente.

La calibración de los tubos detectores se realiza de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Condiciones de funcionamiento - Proceder de acuerdo con las instrucciones del fabricante o empleando un dispositivo como el que se muestra en la figura siguiente:



1. Envase de gas
2. Regulador de presión
3. Válvula de aguja
4. Llave de conmutación
5. Tubo detector
6. Bomba dosificadora
7. Extremo abierto atmósfera

Figura 3

El envase que suministra el gas debe estar conectado a un regulador de presión adecuado y a una válvula de aguja. Conectar a la válvula aguja un tubo flexible provisto de una llave de conmutación. Purgar el sistema con la llave 4 en la posición de purga (7) y ajustar el flujo del gas bajo análisis a un valor apropiado.

Romper ambos extremos del tubo detector y conectar el tubo entre la bomba dosificadora y la válvula 4, siguiendo las instrucciones del fabricante. Operar la bomba 6 de manera de permitir el paso de un volumen adecuado del gas bajo análisis a través del tubo. Leer el valor correspondiente a la longitud de la capa coloreada o a la intensidad del color sobre la escala graduada. Si el resultado obtenido es negativo, el tubo detector debe ser verificado con un gas de calibrado que contenga la sustancia a detectar.

La bomba dosificadora 6 puede reemplazarse eventualmente por un caudalímetro apropiado.

No utilizar el tubo detector para más de una determinación.

Tipos de tubos

Tubo detector de Aceite - Contiene filtros adsorbentes y soportes adecuados para el indicador ácido sulfúrico. El valor mínimo indicado es $0,1 \text{ mg/m}^3$ con una desviación estándar relativa máxima de $\pm 30 \%$.

[NOTA: debido a la gran diversidad de aceites para compresores, es necesario verificar la reactividad de los tubos detectores de aceites frente al aceite usado. La información sobre la reactividad de diversos aceites se da en el folleto suministrado con el tubo.]

Tubo detector de Amoníaco - Contiene filtros adsorbentes y soportes adecuados para el indicador azul de bromofenol. El valor mínimo indicado es

5 ppm con una desviación estándar relativa máxima de $\pm 10 \%$.

Tubo detector de Cloro - Contiene filtros adsorbentes y soportes adecuados para el indicador o-toluidina. El valor mínimo indicado es 0,5 ppm con una desviación estándar relativa máxima de $\pm 10 \%$.

Tubo detector de Dióxido de Azufre - Contiene filtros adsorbentes y soportes adecuados para los indicadores yodo y almidón. El valor mínimo indicado es 0,5 ppm con una desviación estándar relativa máxima de $\pm 15 \%$.

Tubo detector de Dióxido de Carbono - Contiene filtros adsorbentes y soportes adecuados para los indicadores hidrazina y violeta cristal. El valor mínimo indicado es 100 ppm con una desviación estándar relativa máxima de $\pm 15 \%$.

Tubo detector de Monóxido de Carbono - Contiene filtros adsorbentes y soportes adecuados para los indicadores pentóxido de iodo, dióxido de selenio y ácido sulfúrico fumante. El valor mínimo indicado es 2,5 ppm con una desviación estándar relativa máxima de $\pm 15 \%$.

Tubo detector para Monóxido y Dióxido de Nitrógeno - Contiene filtros adsorbentes y soportes adecuados para una capa oxidante de una sal de Cr(VI) y el indicador difenilbencidina. El valor mínimo indicado es 0,5 ppm con una desviación estándar relativa máxima de $\pm 15 \%$.

Tubo detector de Sulfuro de Hidrógeno - Contiene filtros adsorbentes y soportes adecuados para un indicador apropiado de sal de plomo. El valor mínimo indicado es 0,25 ppm con una desviación estándar relativa máxima de $\pm 10 \%$.

Tubo detector de Vapor de Agua - Contiene filtros adsorbentes y soportes adecuados para el indicador perclorato de magnesio. El valor mínimo indicado es 0,05 mg de vapor de agua por litro con una desviación estándar relativa máxima de $\pm 20 \%$.

635. MÉTODOS INMUNOQUÍMICOS

Los métodos inmunoquímicos se basan en la unión específica, reversible y no covalente entre antígenos y anticuerpos. Estos métodos se emplean para detectar o cuantificar tanto antígenos como anticuerpos. La formación de un complejo antígeno-anticuerpo puede ser detectado y la cantidad del complejo formado puede ser medida por varias técnicas. Este método general se aplica a métodos inmunoquímicos que emplean, según el caso, reactivos marcados o no marcados.

Los resultados de los métodos inmunoquímicos dependen de las condiciones experimentales y de la naturaleza y calidad de los reactivos empleados. Es esencial estandarizar los componentes de un inmunoensayo y emplear, cuando se hallen disponibles, las Preparaciones Internacionales de Referencia para Inmunoensayos.

Los reactivos necesarios para numerosos métodos inmunoquímicos se hallan disponibles como kits comerciales, es decir, un conjunto que incluye los reactivos (especialmente el antígeno o el anticuerpo) y los materiales destinados al ensayo *in vitro* de una sustancia específica, así como las instrucciones para su correcto empleo. Los kits deben emplearse siguiendo las instrucciones del fabricante; es importante asegurarse que el kit es apropiado para el análisis de la preparación muestra, sobre todo en lo que se refiere a la especificidad y sensibilidad. Las recomendaciones relativas a los kits para inmunoensayos son establecidas por la Organización Mundial de la Salud, Serie de Informes Técnicos 658 (1981).

MÉTODOS EN LOS QUE SE EMPLEA UN ANTÍGENO MARCADO O UN ANTICUERPO MARCADO

Los métodos que emplean sustancias marcadas pueden emplear marcadores apropiados como enzimas, fluoróforos, luminóforos y radioisótopos. Cuando el marcador es un radioisótopo, el método se denomina radioinmunoensayo o ensayo de unión de radioligando. Las recomendaciones para la medida de la radiactividad que se hallan en 1110. *Preparaciones radiofarmacéuticas* son aplicables a los inmunoensayos que involucran radioisótopos. Todo trabajo que emplee materiales radiactivos debe realizarse de acuerdo con las normas regulatorias que rigen en la materia y las reglas de buenas prácticas internacionalmente aceptadas para la protección frente a los riesgos de radiación.

MÉTODOS EN LOS QUE SE EMPLEA UN ANTÍGENO O UN ANTICUERPO NO MARCADO

Métodos de inmunoprecipitación

Los métodos de inmunoprecipitación incluyen las reacciones de floculación y precipitación. Cuando se mezcla una solución de antígeno con su anticuerpo correspondiente, en las condiciones apropiadas, los reactivos forman agregados floculantes o precipitantes. La relación entre la cantidad de los reactivos que produce el menor tiempo de floculación o la precipitación más acentuada se denomina la relación óptima, generalmente se obtiene en presencia de cantidades equivalentes de antígeno y anticuerpo. La inmunoprecipitación puede detectarse por observación visual o determinarse mediante técnicas de dispersión de la luz (ensayos nefelométricos o turbidimétricos). Es posible lograr un incremento de la sensibilidad mediante el empleo, como soporte, de partículas (por ej. látex) recubiertas de antígeno o anticuerpo.

En los métodos de floculación se emplean diluciones sucesivas de uno de los reactivos, mientras que en los métodos de inmunodifusión (ID), se obtiene la dilución del reactivo por su difusión en un gel, se establecen gradientes de concentración de uno o de ambos reactivos, para crear zonas en el gel en las que la relación entre los reactivos favorece la precipitación. Los métodos de floculación se llevan a cabo en tubos de ensayo, mientras que los métodos de ID pueden realizarse empleando diferentes soportes como tubos, placas, portaobjetos, cubetas o cámaras.

La inmunoprecipitación se denomina *simple* cuando un solo antígeno se combina con su correspondiente anticuerpo; se denomina *compleja* cuando involucra reactivos relacionados pero no serológicamente idénticos y *múltiple* cuando intervienen varios reactivos no relacionados serológicamente.

En los *métodos de difusión simple* se establece un gradiente de concentración para uno solo de los reactivos que difunde desde una fuente externa al gel que contiene el reactivo correspondiente a una concentración relativamente baja.

La *inmunodifusión radial simple* (IDRS) es una técnica simple de inmunodifusión cuantitativa. Cuando se establece el equilibrio entre los reactivos externo e interno, el área de precipitación circular que se origina desde el punto de aplicación del reactivo externo, es directamente proporcional a la concentración del antígeno aplicado e inversamente

proporcional a la concentración de anticuerpo en el gel.

En los *métodos de doble difusión* se establecen gradientes de concentración para ambos reactivos. El antígeno y el anticuerpo difunden desde lugares separados en un gel inicialmente neutro desde el punto de vista inmunológico.

Los *métodos comparativos de difusión doble* se emplean para comparar, cualitativamente, diversos antígenos frente a un anticuerpo apropiado o viceversa. La comparación se basa en la presencia o ausencia de interacción entre las líneas de precipitación. Se pueden distinguir las reacciones de identidad, de no identidad o de identidad parcial de antígenos/anticuerpos.

Métodos inmunolectroforéticos

La inmunolectroforesis (IE) es una técnica cualitativa que combina dos métodos: la electroforesis en gel seguida de la inmunodifusión.

La *inmunolectroforesis cruzada* es una modificación del método de IE, apropiada para ensayos cuali y cuantitativos. En una primera fase de la técnica, se lleva a cabo una electroforesis en gel clásica tras la cual la banda longitudinal del gel, que contiene las fracciones a ensayar, se corta y se transfiere a otra placa. Esta nueva placa se somete a una segunda electroforesis, en un ángulo de 90° respecto a la primera corrida electroforética, empleando un gel que contiene una concentración de anticuerpos comparativamente menor con respecto a los antígenos correspondientes. Para una concentración de anticuerpos y un espesor de gel determinados, la relación entre la respuesta de cada uno de los picos de precipitación y la cantidad del antígeno correspondiente es lineal.

El *electroinmunoensayo*, a menudo denominado rocket inmunolectroforesis, es un método rápido cuantitativo para determinar antígenos con carga diferente de los anticuerpos o viceversa. La electroforesis del antígeno que va a ser analizado se lleva a cabo en un gel que contiene una concentración comparativamente menor del correspondiente anticuerpo. La preparación muestra y las diluciones del antígeno empleado como estándar se introducen en diferentes orificios del gel. Durante la electroforesis se forman arcos de precipitación de forma puntiaguda denominada "rockets" que migran desde los orificios. Cuando el antígeno ya no está en exceso el frente del precipitado detiene su avance. Para una concentración dada en anticuerpo, la relación entre la distancia recorrida por el precipitado y la cantidad de antígeno aplicada es lineal.

La *contraimunolectroforesis* es un método cuantitativo rápido que permite establecer gradientes de concentración de antígeno externo y anticuerpo externo en un campo eléctrico según sus diferentes cargas. Las diluciones de un estándar de calibración y las diluciones de la preparación muestra se introducen en una fila de orificios en el gel y en una fila de orificios opuesta a la primera se introduce una cantidad conocida del reactivo correspondiente. El título de la preparación muestra ensayada se puede considerar como la dilución más elevada que da lugar a línea de precipitación.

Existen diversas modificaciones de la *inmunolectroforesis* cruzada y de los métodos de *electroinmunoensayo*.

Otras técnicas combinan la separación de los antígenos según su tamaño molecular y sus propiedades serológicas.

Visualización y caracterización de las líneas de inmunoprecipitación

Estas pueden realizarse mediante tinciones selectivas o no selectivas, por fluorescencia, mediante marcación enzimática e isotópica o por otras técnicas apropiadas. Los métodos de tinción selectiva son los empleados, habitualmente, para la caracterización de sustancias no proteicas en los precipitados.

En los geles traslúcidos, como los de agar o agarosa, la línea de precipitación es visible claramente, siempre que la concentración de cada uno de los reactivos sea la apropiada.

VALIDACIÓN DEL MÉTODO

Criterios de validación

El método inmunoquímico cuantitativo solo es válido si:

- 1) El antígeno o anticuerpo no discrimina entre preparación muestra y estándar.
- 2) El método no se ve afectado por otros componentes de la preparación muestra o de sus excipientes, que pueden variar de una muestra a otra. Estos componentes pueden incluir concentraciones elevadas de otras proteínas, sales, conservantes o actividad proteolítica contaminante.
- 3) El límite de cuantificación es inferior al criterio de aceptación indicado en la monografía correspondiente.
- 4) La precisión de la valoración es tal que la varianza de los resultados corresponde a la exigencia establecida en la monografía correspondiente.

5) Hay ausencia de errores sistemáticos, ligados a la secuencia en la que se ha efectuado la determinación.

Métodos de validación

Para verificar estos criterios, el método de validación debe respetar lo siguiente:

1) La valoración se realiza, al menos, por triplicado.

2) La valoración incluye, como mínimo, 3 diluciones diferentes de la preparación estándar y 3 diluciones diferentes de la preparación muestra que supuestamente presentan una actividad similar a la preparación estándar.

3) El diseño del ensayo es aleatorizado.

4) Si la preparación muestra es un suero o si está formulada con otros componentes, el estándar se prepara de la misma manera.

5) La valoración incluye la medida de la unión inespecífica del reactivo marcado.

6) Para los inmunoensayos con desplazamiento:

a) Se determina la unión máxima (desplazamiento cero).

b) Las diluciones cubren la gama completa de respuestas desde la unión máxima hasta valores cercanos a la unión inespecífica, preferentemente tanto para la preparación muestra como para el estándar.

CÁLCULO ESTADÍSTICO

Para el análisis de resultados, las curvas de respuestas de la preparación muestra y la del estándar, pueden evaluarse según los métodos descritos en *10. Análisis estadístico de resultados de ensayos biológicos*.

Un no paralelismo significativo indica que el anticuerpo o el antígeno discrimina entre la preparación muestra y el estándar e implica que los resultados no son válidos.

En los inmunoensayos con desplazamiento, los valores de uniones inespecíficas y del máximo desplazamiento, a una concentración elevada de la preparación muestra o del estándar, no deben ser significativamente diferentes. Las diferencias podrían reflejar la interferencia debida al efecto matriz tanto por inhibición de la unión como por degradación del marcador.

740. UNIFORMIDAD DE UNIDADES DE DOSIFICACIÓN

La Uniformidad de Unidades de Dosificación se define como el grado de homogeneidad en la cantidad de principio activo de las unidades de dosificación.

La unidad de dosificación está constituida por una forma farmacéutica monodosis o la fracción a administrar de una forma farmacéutica multidosis provista de sistema dosificador.

Los requisitos de este capítulo son aplicables a unidades de dosificación que contengan uno o más principios activos, aplicándose en este último caso a cada uno de ellos, a menos que se especifique de otro modo en la monografía individual.

La especificación de la uniformidad de unidades de dosificación no es aplicable a suspensiones, emulsiones o geles en envases de dosis única destinados para administración tópica.

La uniformidad de las unidades de dosificación se puede demostrar mediante uno de los siguientes ensayos, *Uniformidad de Contenido* o *Uniformidad de peso* (ver *Tabla 1*). El ensayo de *Uniformidad de Contenido* se basa en la valoración individual del contenido de un principio activo o principios activos en un número de unidades de dosificación a fin de determinar si el contenido individual se encuentra dentro de los límites especificados. El ensayo de *Uniformidad de Contenido* se puede aplicar en todos los casos.

Aunque se emplee el ensayo de *Uniformidad de peso*, en caso de controversia el producto deberá cumplir con el ensayo oficial de *Uniformidad de Contenido*.

El ensayo de *Uniformidad de peso* podrá aplicarse sólo para las formas farmacéuticas que se

describen a continuación, a menos que se indique lo contrario en la monografía individual:

- a) Soluciones contenidas en envases de dosis única y en cápsulas blandas.
- b) Sólidos (incluidos los polvos, gránulos y sólidos estériles) en envases monodosis, que no contengan otras sustancias activas o inactivas agregadas.
- c) Sólidos (incluidos los sólidos estériles) en envases monodosis que contengan o no otras sustancias activas o inactivas agregadas, que hayan sido liofilizados a partir de soluciones verdaderas en sus envases finales que declaran haber sido liofilizados.
- d) Cápsulas rígidas, comprimidos sin cubierta o con cubierta filmica que contengan 50 mg o más de un principio activo que corresponda al 50 % o más, en peso, de la unidad de dosificación o, en el caso de cápsulas rígidas, el contenido de las cápsulas, excepto que se muestre la uniformidad de otros principio activos presentes en proporciones menores en cumplimiento de los requisitos de *Uniformidad de Contenido*.

El ensayo de *Uniformidad de Contenido* se requiere para todas las formas farmacéuticas que no cumplen las condiciones enumeradas anteriormente para el ensayo de *Uniformidad de peso*.

Tabla 1. Aplicación de los Ensayos de Uniformidad de Contenido (UC) y Uniformidad de peso (UP) para Formas Farmacéuticas.

Forma Farmacéutica	Tipo	Subtipo	Dosis y Proporción de Principio activo	
			≥ 50 mg y ≥ 50 %	< 50 mg y < 50 %
Comprimidos	Sin cubierta		UP	UC
	Recubiertas	Cubierta filmica	UP	UC
		Otras	UC	UC
Cápsulas	Rígidas		UP	UC
	Blandas	Suspensión, Emulsión o gel	UC	UC
		Soluciones	UP	UP
Sólidos en envases monodosis	Componente único		UP	UP
	Varios componentes	Solución liofilizada en envase final	UP	UP
		Otras	UC	UC
Soluciones en envases de dosis única			UP	UP
Sistemas transdérmicos			UC	UC
Supositorios			UC	UC
Otros			UC	UC

UNIFORMIDAD DE CONTENIDO

Seleccionar no menos de 30 unidades y proceder como se indica a continuación para cada forma farmacéutica especificada. Cuando sea necesario, la monografía indicará un *Procedimiento especial para Uniformidad de Contenido* diferente al de la valoración.

Formas farmacéuticas sólidas - Valorar 10 unidades individualmente empleando un ensayo analítico adecuado. Calcular el valor de aceptación.

Formas farmacéuticas líquidas - Realizar la *Valoración* sobre la cantidad de material bien mezclado que se retira de un envase individual en condiciones normales de uso y expresar los resultados como dosis extraída. Calcular el valor de aceptación.

Cálculo del Valor de Aceptación - Calcular el valor de aceptación por la fórmula siguiente:

$$|M - \bar{X}| + ks$$

en donde los términos se definen en la *Tabla 2*.

Tabla 2

Variable	Definición	Condiciones	Valor
\bar{X}	Media de los contenidos individuales (x_1, x_2, \dots, x_n), expresados como porcentaje de la cantidad declarada.		
x_1, x_2, \dots, x_n	Contenido individual de las unidades analizadas, expresado como porcentaje de la cantidad declarada		
n	Tamaño de la muestra (número de unidades en una muestra)		
k	Constante de aceptabilidad	Si $n = 10$	2,4
		Si $n = 30$	2,0
s	Desviación estándar de la muestra		$\left[\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n - 1} \right]^{\frac{1}{2}}$
CV	Coefficiente de variación o Desviación estándar relativa		$\frac{100s}{\bar{X}}$
Valor de Aceptación (VA)			fórmula general: $ M - \bar{X} + ks$
M (caso 1) a aplicar cuando $T \leq 101,5$	Valor de referencia	Si $98,5 \% \leq \bar{X} \leq 101,5 \%$	$M = \bar{X}$ ($VA = ks$)
		Si $\bar{X} \leq 98,5 \%$	$M = 98,5 \%$ $VA = 98,5 \% - \bar{X} + ks$
		Si $\bar{X} > 101,5 \%$	$M = 101,5 \%$ $VA = \bar{X} - 101,5 \% + ks$
M (caso 2) a aplicar cuando $T > 101,5$	Valor de referencia	Si $98,5 \% \leq \bar{X} \leq T$	$M = \bar{X}$ $VA = ks$
		Si $\bar{X} \leq 98,5 \%$	$M = 98,5 \%$ $VA = 98,5 \% - \bar{X} + ks$
		Si $\bar{X} > T$	$M = T \%$ $VA = \bar{X} - T + ks$
$L1$	Máximo valor de aceptación permitido		$L1 = 15,0$ a menos que se especifique algo diferente en la monografía individual
$L2$	Máximo intervalo permitido para la desviación de cada unidad de dosificación analizada a partir del valor calculado de M	Para los valores inferiores, ningún resultado de unidad de dosificación puede ser menor de $[1 - (0,01)(L2)]M$, mientras que para los valores superiores ningún resultado de unidad de dosificación puede ser mayor de $[1 + (0,01)(L2)]M$	$L2 = 25,0$ a menos que se especifique algo diferente en la monografía individual

T	<p>Contenido deseado por unidad de dosificación al momento de fabricación, expresado como porcentaje de la cantidad declarada. A menos que se especifique algo diferente en la monografía individual, T es 100,0 %, y para los propósitos de fabricación, T es el valor deseado aprobado de la cantidad de ensayo del fabricante en el momento de la fabricación.</p>		
-----	---	--	--

UNIFORMIDAD DE PESO

Llevar a cabo una valoración del (de los) principio activo (s) en una muestra representativa del lote empleando un ensayo analítico adecuado. Este valor es el resultado V , expresado como porcentaje de la cantidad declarada (ver *Cálculo del Valor de Aceptación*). Se debe asumir que la concentración (peso del principio activo por unidad de dosificación) es uniforme. Seleccionar no menos de 30 unidades de dosificación y proceder según se indica a continuación para la forma farmacéutica especificada.

Comprimidos y Comprimidos con cubierta filmica - Pesar con exactitud 10 comprimidos individualmente. Calcular el contenido, expresado como % de la cantidad declarada, a partir del peso del contenido individual y del resultado de la *Valoración*. Calcular el valor de aceptación.

Cápsulas rígidas - Pesar con exactitud 10 cápsulas individualmente, teniendo cuidado de preservar la identidad de cada cápsula. Retirar cuantitativamente el contenido de cada cápsula por un medio adecuado. Pesar individualmente con exactitud las cubiertas vacías y calcular para cada cápsula el peso neto de su contenido restando el peso de la cubierta del peso bruto respectivo. Calcular el contenido del principio activo de cada cápsula a partir del peso neto del contenido de la cápsula individual y del resultado de la *Valoración*. Calcular el valor de aceptación.

Cápsulas blandas - Pesar con exactitud 10 cápsulas intactas individualmente para obtener sus pesos brutos, teniendo cuidado de preservar la identidad de cada cápsula. Luego cortar y abrir las cápsulas con ayuda de un instrumento cortante seco, limpio y adecuado y retirar el contenido lavando con un solvente apropiado. Dejar que el disolvente ocluido se evapore de las cubiertas a temperatura ambiente durante un período de aproximadamente 30 minutos, tomando precaución de evitar la absorción o pérdida de humedad. Pesar las cubiertas individualmente y calcular el contenido neto. Calcular el contenido de principio activo en cada cápsula a partir del peso del producto retirado

de la cápsula individual y del resultado de la *Valoración*. Calcular el valor de aceptación.

Formas farmacéuticas sólidas diferentes de comprimidos y cápsulas - Proceder según se indica en cápsulas rígidas. Calcular el valor de aceptación.

Formas farmacéuticas líquidas - Pesar con exactitud la cantidad de líquido que se retira de cada uno de 10 envases individuales en condiciones normales de uso. Si fuera necesario, calcular el volumen equivalente después de determinar la densidad. Calcular el contenido de principio activo en cada envase a partir de la masa de producto retirada de los envases individuales y el resultado de la *Valoración*. Calcular el valor de aceptación.

Cálculo del Valor de Aceptación - Calcular como se indica en *Uniformidad de Contenido* con la excepción de que el contenido individual de las unidades se reemplaza por el contenido estimado individual, como se define a continuación:

x_1, x_2, \dots, x_n = contenido estimado individual de las unidades analizadas, en donde $x_i = p_i \times V / \bar{P}$,

\bar{P} = media de pesos individuales (p_1, p_2, \dots, p_n), y

V = contenido de principio activo (porcentaje de la cantidad declarada) obtenido empleando un ensayo analítico adecuado.

Criterios

Aplicar los siguientes criterios, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente.

Formas farmacéuticas sólidas y líquidas - Los requisitos para la uniformidad de dosificación se cumplen si el valor de aceptación de las primeras diez unidades de dosificación es menor o igual a $L1$. Si el valor de aceptación es mayor que $L1$, analizar las siguientes veinte unidades y calcular el valor de aceptación. Los requisitos para la uniformidad se

cumplen si el valor de aceptación final de las treinta unidades de dosificación es menor o igual a L_1 , y si el contenido individual de ninguna unidad de dosificación es menor de $[1 - (0,01)(L_2)] M$ ni mayor de $[1 + (0,01)(L_2)] M$ como se especifica en *Cálculo de Valor de Aceptación en Uniformidad de Contenido* o en *Uniformidad de peso*. A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, L_1 es 15,0 y L_2 es 25,0.

745. VACUNAS DE USO HUMANO

Vaccina ad usum humanum

Definición - Las vacunas para uso humano son preparaciones que contienen sustancias antigénicas capaces de inducir en el hombre una inmunidad activa específica contra un agente infeccioso o toxina o antígeno elaborada por el mismo. Las vacunas deben poseer una actividad inmunogénica aceptable demostrada en el hombre para el esquema propuesto.

Las vacunas para uso humano pueden contener: organismos inactivados por medios químicos o físicos que mantengan las propiedades inmunogénicas adecuadas; organismos vivos que son naturalmente no virulentos o que han sido tratados para atenuar su virulencia conservando las propiedades inmunogénicas adecuadas; antígenos extraídos o secretados de organismos o producidos por ingeniería genética. Los antígenos pueden ser utilizados en su estado nativo o detoxificado por medios químicos o físicos y pueden ser agregados, polimerizados o conjugados a un portador para incrementar su inmunogenicidad.

GLOSARIO

Sistema de lote semilla - En un sistema de lote semilla los lotes sucesivos de un producto se derivan del mismo lote semilla maestro. Para la producción de rutina, puede prepararse un lote semilla de trabajo a partir del lote semilla maestro. Debe registrarse el origen y el listado histórico de los pasajes del lote semilla maestro y del de trabajo.

Lote semilla maestro - Cultivo de un microorganismo distribuido desde un único contenedor a envases que se procesan juntos en una misma operación, de tal manera que se asegure la uniformidad y la estabilidad y se evite la contaminación. Un lote semilla maestro normalmente se almacena en forma líquida a una temperatura igual o menor de -70°C o en forma liofilizada a la temperatura necesaria para garantizar su estabilidad.

Lote semilla de trabajo - Cultivo de un microorganismo derivado del lote semilla maestro y destinado a ser utilizado en la producción. Los lotes semilla de trabajo se distribuyen en envases y se conservan como se ha indicado para el lote semilla maestro.

Sistema de banco de células - En un sistema de banco de células, los lotes sucesivos de un producto se fabrican por cultivo en células derivadas de un mismo banco maestro de células. Se usa un número de envases del banco maestro de células para preparar un banco de trabajo de células. Debe validarse el

número mayor de pasajes permitido durante la producción de rutina para el sistema de banco de células.

Banco maestro de células - Cultivo de células distribuido en envases en una única operación, procesado y conservado de tal manera que se evite la contaminación y quede garantizada la uniformidad y la estabilidad. El banco maestro de células se almacena normalmente a una temperatura igual o menor de -70°C .

Banco de trabajo de células - Cultivo de células derivadas del banco maestro de células destinado a la preparación de cultivos celulares para producción. El banco de trabajo de células se distribuye en envases, se procesa y se almacena del modo descrito para el banco maestro de células.

Cultivo primario de células - Cultivo de células obtenido por tripsinación de un tejido u órgano adecuado. Las células son esencialmente idénticas a las del tejido animal de origen y se encuentran en una fase de producción menor a 5 pases *in vitro* desde la preparación inicial a partir del tejido animal.

Línea celular - Cultivo de células que tienen una elevada capacidad de multiplicación *in vitro*. En las líneas de células diploides, las células tienen esencialmente las mismas características que las del tejido animal de origen. En las líneas celulares continuas, las células pueden multiplicarse indefinidamente en cultivo y se pueden obtener de tejidos sanos o tumorales. Algunas líneas celulares continuas pueden presentar potencial actividad oncogénica en ciertas condiciones.

Cultivo celular de producción - Cultivo de células derivado de uno o varios envases del banco de trabajo de células o de células primarias, destinado al uso en la producción.

Células control - Una cantidad de células dejadas aparte, en el momento de la inoculación del virus, como control de células no infectadas. Estas células se someten a incubación en condiciones equivalentes a las usadas para los cultivos celulares de producción.

Cosecha única - Producto derivado en una o más ocasiones de un sólo cultivo celular de producción inoculado con el mismo lote semilla de trabajo o con una suspensión derivada de dicho lote, sometido a incubación y cosechado en una única operación de producción.

Mezcla de cosechas monovalente - Una mezcla de cosechas que contiene una sola cepa o tipo de microorganismo o de antígeno, derivada de huevos,

de cultivos celulares, etc., procesados al mismo tiempo.

Vacuna final a granel - Producto que ha experimentado todos los pasos de fabricación a excepción del envasado final. Consiste en una o más mezclas de cosechas monovalentes, procedentes de cultivos de una o de varias especies o tipos de microorganismos, después de la clarificación, dilución o adición de coadyuvantes o de otras sustancias auxiliares, o tras otras operaciones. Se somete a un tratamiento que asegure su homogeneidad y se utiliza para el llenado de los envases de uno o más lotes finales.

Vacunas bacterianas - Suspensiones de distinto grado de opacidad en líquidos incoloros o casi incoloros. Pueden presentarse también en forma liofilizada. La concentración de bacterias vivas o inactivadas se expresa en términos de unidades de opacidad o, cuando sea apropiado, se determina por conteo directo de células o por conteo de viables para bacterias vivas.

Toxoides bacterianos - Son preparados a partir de toxinas por disminución de su toxicidad a niveles no detectables o por eliminación completa de la misma por procedimientos químicos o físicos manteniendo las propiedades inmunogénicas. Las toxinas son obtenidas a partir de cepas específicas de microorganismos. El método de producción es tal que el toxoide no revierta a toxina. Los toxoides pueden ser líquidos o liofilizados. Pueden ser purificados y adsorbidos. Los toxoides adsorbidos son suspensiones de partículas blancas o grises dispersas en líquido incoloro o amarillo pálido y pueden formar un sedimento en el fondo del envase.

Vacunas virales - Son preparadas a partir de virus desarrollados en animales, en huevos fertilizados, en cultivos celulares adecuados o en tejidos adecuados o por cultivos de células obtenidas por ingeniería genética. Pueden presentarse en forma de líquido de variada opacidad o como liofilizado. Las preparaciones líquidas y liofilizadas luego de la reconstitución pueden ser coloreadas si se ha utilizado en el medio de cultivo un indicador de pH tal como rojo fenol.

Algunas vacunas o sus componentes pueden ser obtenidas a partir de técnicas de biotecnología y deben responder a lo establecido para los productos biotecnológicos.

PRODUCCIÓN

Consideraciones generales

Los requisitos para la producción, incluyendo los controles en proceso están incluidos en las monografías individuales.

Salvo casos justificados y autorizados, las vacunas son preparadas utilizando un sistema de lote

semilla. Los métodos de preparación deben ser diseñados de forma de mantener las propiedades inmunogénicas y obtener una preparación inocua libre de contaminación con agentes extraños.

Salvo caso justificado y autorizado, en la producción de un lote final de vacuna el número de pasajes del virus o el número de subcultivos de la bacteria a partir del lote semilla maestro no debe ser mayor al utilizado para la producción de la vacuna usada en ensayos clínicos para demostrar seguridad y eficacia.

Las vacunas deben, hasta donde sea posible, estar libres de ingredientes conocidos que causen reacciones tóxicas, alérgicas u otras reacciones indeseables en el hombre. Pueden ser incorporados aditivos adecuados, incluyendo estabilizantes y adyuvantes. No puede utilizarse penicilina ni estreptomina en ninguna etapa de la producción ni pueden ser agregadas al producto final; sin embargo, los lotes semilla maestro preparados con medio conteniendo penicilina o estreptomina pueden ser utilizados para la producción cuando se encuentre justificado y autorizado.

Sustrato para la propagación

Las células usadas para la propagación deben cumplir con los requisitos de 1125. *Sustratos Celulares para la Producción de Vacunas de uso Humano*. El procesamiento de los bancos celulares o de subsecuentes cultivos celulares debe realizarse bajo condiciones de asepsia en un área donde no se manipulen otras células. El suero y la tripsina utilizadas en la preparación de suspensiones celulares deben demostrar estar libres de agentes extraños, incluyendo controles para prevenir transmisión de Enfermedades Espongiformes Bovinas.

Lotes semilla

La cepa de bacteria o virus utilizada en el lote semilla maestro debe ser identificada por registros históricos documentados que incluyan información del origen de las cepas y su subsecuente manipulación. Se deben tomar medidas apropiadas para asegurar que no se encuentra presente en el lote semilla otro microorganismo que la cepa semilla.

Medio de cultivo

Debe estar, hasta donde sea posible, libre de ingredientes que causen reacciones tóxicas, alérgicas u otras reacciones indeseables en el hombre; si fuera necesaria la inclusión de estos ingredientes se debe demostrar que la cantidad presente en el lote final es reducida a un nivel tal que resulte en un producto seguro. En el medio de crecimiento para cultivos celulares se puede emplear suero animal aprobado (pero no humano), pero no el medio utilizado para el mantenimiento del crecimiento celular

durante la multiplicación del virus que no debe contener suero, salvo caso indicado. El medio de cultivo celular puede contener un indicador de pH tal como rojo de fenol y antibióticos aprobados a la concentración efectiva más baja, aunque es preferible tener un medio libre de antibióticos durante la producción.

Multiplicación y cosecha

Los cultivos semilla se deben propagar y cosechar bajo condiciones definidas. La pureza de la cosecha se debe verificar por ensayos apropiados según se indica en la monografía individual.

Células control

Los controles celulares para vacunas producidas en cultivos celulares se deben mantener y controlar según se indica en la monografía individual. Para obtener un control válido las células deben ser mantenidas en condiciones que sean rigurosamente idénticas que las utilizadas para la producción de cultivos celulares, incluyendo el uso de los mismos lotes de medio y los cambios de medios.

Huevos control

Para vacunas vivas producidas en huevos, los huevos control deben ser incubados y analizados según se indica en la monografía individual.

Purificación

Donde sean pertinentes, se deben emplear procedimientos de purificación validados.

Inactivación

Las vacunas inactivadas deben ser producidas utilizando procesos de inactivación validados cuyas efectividades y consistencia hayan sido demostradas. Donde haya contaminantes potenciales reconocidos de una cosecha, por ejemplo en vacunas producidas en huevos provenientes de gallinas no libres de patógenos especificados (SPF), el proceso de inactivación también debe estar validado con respecto a potenciales contaminante. El ensayo para inactivación debe ser realizado tan pronto como sea posible después del proceso de inactivación, salvo caso justificado y autorizado.

Estabilidad de productos intermedios

Durante la producción de vacunas, los productos intermedios se obtienen en varias etapas y deben ser almacenados a veces por largos períodos. Algunos de estos productos intermedios incluyen:

- lotes semilla,
- cosechas vivas o inactivadas de cultivos bacterianos o virales,
- cosechas purificadas que pueden consistir en toxinas o toxoides, polisacáridos, suspensiones bacterianas o virales,
- antígenos purificados,

- antígenos adsorbidos,
- polisacáridos conjugados,
- vacuna final a granel,
- vacuna en el envase final cerrado almacenada a una temperatura inferior de la utilizada para los estudios de estabilidad y destinada a ser liberada sin re-análisis.

Excepto cuando se utilicen en un período corto de tiempo, se deben realizar estudios de estabilidad en productos intermedios en las condiciones de almacenamiento propuesta para establecer el grado de degradación.

Para la vacuna final a granel, se pueden realizar estudios de estabilidad en muestras representativas en condiciones equivalentes a las propuestas a ser utilizadas para el almacenamiento. Para cada producto intermedio (excepto para los lotes semilla) se aplica, cuando sea apropiado en base a los estudios de estabilidad, un período de validez para las condiciones propuestas de almacenamiento.

Granel final

El granel final se debe preparar por mezclado de los ingredientes de la vacuna en forma aséptica.

Ayudantes

Las vacunas pueden ser adsorbidas en soportes inertes tales como hidróxido de aluminio, fosfato de aluminio, fosfato de calcio u otro adyuvante que hayan demostrado ser adecuados para su uso en humanos. El adyuvante se debe preparar en condiciones especiales que le confieran apropiada forma física y propiedades adsorptivas. El desarrollo de nuevos adyuvantes requiere que se cuente con toda la información propia del adyuvante y su comportamiento con el antígeno que se unirá.

Conservantes antimicrobianos

Se utilizan conservantes antimicrobianos para prevenir el deterioro o efectos adversos causados por contaminación microbiana ocurrida durante el uso de la vacuna. Los conservantes antimicrobianos no se incluyen en los productos liofilizados. La inclusión de conservantes antimicrobianos no es aceptada en preparaciones líquidas monodosis. Para las preparaciones líquidas multidosis se evalúa la necesidad de un conservante antimicrobiano teniendo en cuenta la contaminación durante el uso y el período máximo recomendado antes de la apertura por primera vez del envase. Si se utiliza un conservante antimicrobiano se debe demostrar que éste no perjudica la seguridad o eficacia de la vacuna. No es normalmente aceptable el agregado de antibióticos como conservantes antimicrobianos.

Durante los estudios de desarrollo se debe demostrar la efectividad del conservante antimicrobiano seleccionado a lo largo del período de validez

que será autorizado por la Autoridad Sanitaria al momento del registro.

La eficacia del conservante antimicrobiano se evalúa como se indica en *Eficacia en 80. Conservantes*.

Lote final

Para vacunas de administración parenteral se debe preparar el lote final por distribución aséptica del granel final en envases estériles con cierre inviolable, los que luego de la liofilización deben ser cerrados de manera tal de evitar la contaminación.

Para vacunas de administración por una vía no parenteral los lotes finales deben ser preparados por distribución del granel final bajo condiciones apropiadas en envases estériles de cierre inviolable.

Grado de adsorción

Durante el desarrollo de la vacuna adsorbida se evalúa el grado de adsorción como parte del análisis de consistencia o de homogeneidad. Se establece una especificación para el grado de adsorción en base a los resultados encontrados para los lotes utilizados en los ensayos clínicos. A partir de los datos de estabilidad generados para la vacuna se debe demostrar que al final del período de validez el grado de adsorción no debe ser menor que el de los lotes empleados en ensayos clínicos.

Estabilidad

Durante los estudios de desarrollo, se debe demostrar que la potencia del lote final se mantiene a lo largo del período de validez. La pérdida de potencia en las condiciones de almacenamiento recomendadas es evaluada y la pérdida excesiva, incluso dentro de los límites de aceptación de la potencia, puede indicar que la vacuna no es aceptable.

Fecha de vencimiento

Salvo que se establezca, la fecha de vencimiento se calcula a partir del comienzo de la valoración o a partir del comienzo de la primera valoración para una vacuna combinada. Para las vacunas almacenadas a temperatura menor a la utilizada para los estudios de estabilidad y propuestas para la liberación sin re-análisis, la fecha de vencimiento se calcula a partir de la fecha que se retiran del almacenamiento en frío. Si para una vacuna dada, la valoración no se realiza, la fecha de vencimiento se calcula a partir de la fecha de aprobación del ensayo indicador de la estabilidad o, si este faltase, a partir de la fecha de liofilizado, o de la fecha de llenado en el envase final. Para vacunas combinadas, cuando los componentes son presentados en envases separados, la fecha de vencimiento será la del componente que expire primero.

La fecha de vencimiento es aplicada a vacunas almacenadas en las condiciones indicadas.

Ensayos en animales

Para la protección de animales vertebrados utilizados para experimentación y otros propósitos científicos, los ensayos deben ser realizados de manera de utilizar la mínima cantidad de animales y causar el menor sufrimiento, angustia o daño terminal. El criterio para juzgar ensayos en las monografías debe aplicarse en base a estas consideraciones. Por ejemplo, si se indica que un animal es el parámetro para demostrar positividad, infección etc, tan pronto cuando ocurran los signos clínicos típicos o la muerte y se obtiene la indicación suficiente de los resultados positivos, el animal en cuestión debe ser destruido humanamente o darle el tratamiento adecuado para prevenir el sufrimiento innecesario. Pueden utilizarse métodos de ensayos alternativos para demostrar cumplimiento con la monografía y el uso de dichos ensayos es particularmente estimulado cuando lleva al reemplazo o reducción de animales utilizados o la reducción del sufrimiento, a condición de que se halla realizado una validación de estos métodos.

CONSERVACIÓN

Proteger de la luz. Salvo otro caso indicado, la temperatura de almacenamiento debe ser de 5 ± 3 °C. Las vacunas adsorbidas líquidas no se deben congelar.

ENSAYOS

Las vacunas deben cumplir con los ensayos descritos en las monografías individuales. Incluir cuando sea necesario, los siguientes ensayos:

Determinación de agua <120>

No debe contener más de 3,0 % p/p para vacunas liofilizadas, salvo otro caso indicado.

Determinación de aluminio en vacunas adsorbidas

Transferir una porción de la muestra en ensayo, previamente homogeneizada, que contenga aproximadamente 5 a 6 mg de aluminio, a un recipiente de combustión de 50 ml. Agregar 1 ml de ácido sulfúrico, 0,1 ml de ácido nítrico y algunas perlas de vidrio y calentar hasta desprendimiento de vapores blancos densos. [NOTA: si la muestra en ensayo se carboniza, agregar algunas gotas de ácido nítrico y mantener la ebullición hasta decoloración]. Dejar enfriar algunos minutos, agregar con precaución 10 ml de agua y continuar la ebullición hasta obtener una solución límpida. Dejar enfriar, agregar 0,05 ml de naranja de metilo (SR) y neutralizar aproximadamente con 6,5 a 7 ml de una solución de 0,42 g de hidróxido de sodio por ml. Si forma precipitado, disolver el mismo mediante el agregado, gota a gota, de ácido sulfúrico diluido, preparado

disolviendo 5,5 ml de ácido sulfúrico en 100 ml de agua. Transferir la solución obtenida a un erlenmeyer de 250 ml y enjuagar el recipiente de combustión con 25 ml de agua. Agregar 25 ml de edetato disódico 0,02 M, 10 ml de una solución reguladora de acetato (SR1) y algunas perlas de vidrio. Mantener a ebullición suave durante 3 minutos. Agregar 0,1 ml de una solución de 1 mg de 1-(2-piridilazo)-2-naftol por ml de alcohol y titular con sulfato de cobre 0,02 M (SV) hasta viraje a color pardo púrpura. Realizar el ensayo con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada ml de edetato disódico 0,02 M (SV) equivale a 0,5396 mg de aluminio (Al). No debe contener más de 1,25 mg de aluminio (Al) por dosis humana, cuando un adsorbente de aluminio se haya utilizado en la vacuna, salvo otro caso indicado.

Determinación de calcio en vacunas adsorbidas

Homogeneizar una porción de la muestra en ensayo, transferir 1 ml a un recipiente apropiado, agregar 0,2 ml de ácido clorhídrico diluido y diluir a 3 ml con agua. Medir las absorbancias a 620 nm utilizando un espectrofotómetro de absorción atómica (ver *Método I* en 440. *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica*) y calcular la cantidad de calcio presente. No debe contener más de 1,3 mg de calcio (Ca) por dosis humana, cuando un adsorbente cálcico se haya utilizado en la vacuna, salvo otro caso indicado.

Formaldehído libre

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, emplear el *Método I*. El *Método II* es conveniente para vacunas a las que se le ha agregado metabisulfito de sodio para neutralizar el exceso de formaldehído.

Método I

Realizar una dilución 1 en 10 de la vacuna en ensayo. Transferir 1 ml de la solución obtenida a un tubo de comparación, agregar 4 ml de agua y 5 ml de una solución de 0,2 ml de acetilacetona en 100 ml de acetato de amonio (SR1). Mantener en un baño de agua a 40 °C durante 40 minutos. Examinar la solución: no debe desarrollar coloración más intensa que la de un control preparado del mismo modo pero con 1 ml de una solución de formaldehído que contenga 20 µg de formaldehído (CH₂O) por ml.

Método II

Soluciones estándar - Preparar soluciones que contengan aproximadamente 0,25; 0,50; 1,00 y 2,00 mg de formaldehído por ml. Realizar una dilución 1 en 200 de cada solución, respectivamente.

Solución muestra - Realizar una dilución 1 en 200 de la vacuna en ensayo. Si la vacuna es una emulsión, realizar una dilución 1 en 20 empleando la fase acuosa obtenida por uno de los siguientes procedimientos: a) agregar 1 ml de la vacuna en ensayo a 1 ml de miristato de isopropilo y mezclar. Agregar 1,3 ml de ácido clorhídrico 1 N, 2 ml de cloroformo y 2,7 ml de una solución de 9 mg de cloruro de sodio por ml. Mezclar y centrifugar a 15.000 g durante 1 hora. Transferir la fase acuosa a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua. Si la separación no se logra, agregar una cantidad adecuada de una solución de 100 mg de polisorbato 20 por ml a la solución de cloruro de sodio empleada y repetir el procedimiento pero centrifugando a 22.500 g; b) agregar 1 ml de la vacuna en ensayo a 1 ml de una solución de 100 mg de cloruro de sodio por ml y mezclar. Centrifugar a 1.000 g durante 15 minutos. Transferir la fase acuosa a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua; c) agregar 1 ml de la vacuna en ensayo a 2 ml de una solución de 100 mg de cloruro de sodio por ml, agregar 3 ml de cloroformo y mezclar. Centrifugar a 1.000 g durante 5 minutos, transferir la fase acuosa a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua.

Procedimiento - Transferir 0,5 ml de la *Solución muestra* y 0,5 ml de cada una de las *Soluciones estándar* a sendos tubos de ensayo, agregar 5 ml de una solución recientemente preparada de 0,5 mg de cloruro de metilbenzotiazolona-hidrazona por ml. Tapar los tubos, agitar y dejar reposar durante 1 hora. Agregar 1 ml de cloruro férrico-ácido sulfámico (SR) y dejar reposar durante 15 minutos. Medir la absorbancia a 628 nm (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*), realizar la curva de calibración con las *Soluciones estándar* y calcular el contenido de formaldehído en la vacuna en ensayo. El ensayo sólo es válido si el coeficiente de correlación de la curva de calibración es mayor de 0,97.

La vacuna no debe contener más de 0,2 g por litro de formaldehído libre en el producto final, cuando se haya utilizado formaldehído en la preparación de la vacuna, salvo otro caso indicado.

Fenol

Soluciones estándar - Preparar una serie de soluciones de *Fenol* que contengan aproximadamente 5, 10, 15, 20 y 30 µg de fenol por ml.

Solución muestra - Homogeneizar una porción de la muestra en ensayo, preparar una solución que contenga aproximadamente 15 µg de fenol por ml.

Procedimiento - A 5 ml de la *Solución muestra* y a 5 ml de cada *Solución estándar*, agregar 5 ml de *Solución reguladora alcalina de borato pH 9,0* (ver

Soluciones reguladoras), 5 ml de aminopirazolona (SR) y 5 ml de una solución de ferricianuro de potasio al 5,3 %. Dejar reposar durante 10 minutos y medir la absorbancia a 546 nm. Realizar una curva de calibración y calcular el contenido de fenol en la porción en ensayo. La vacuna no debe contener más de 2,5 g por litro en el producto final, cuando se haya utilizado fenol en la preparación de la vacuna, salvo otro caso indicado.

ROTULADO

Indicar en el rótulo el nombre de la preparación; una referencia identificando el lote final; la dosis humana recomendada y la ruta de administración; las condiciones de almacenamiento; la fecha de vencimiento; el nombre y la cantidad de cualquier conservante antimicrobiano utilizado; el nombre de cualquier antibiótico, adyuvante, saborizante o estabilizador presente en la vacuna; el nombre de cualquier constituyente que pueda causar reacciones adversas y cualquier contraindicación para el uso de la vacuna.

Para vacunas liofilizadas, indicar el nombre o composición y el volumen del líquido reconstituyente a ser agregado; indicar el tiempo dentro del cual la vacuna puede ser utilizada luego de la reconstitución.

TEXTOS DE INFORMACIÓN GENERAL

1005. AGUA CALIDAD FARMACÉUTICA

El agua es la principal materia prima utilizada en la industria farmacéutica. Puede ser empleada como excipiente, en pasos de síntesis, en la manufactura de productos terminados o como agente de limpieza de reactores, equipamiento, materiales de envase primario y otros.

Según el proceso farmacéutico del que se trate, se requerirán distintos grados de calidad de agua. El control de la calidad del agua, incluyendo su calidad microbiológica, es un importante desafío para la industria farmacéutica.

CLASIFICACIÓN Y REQUERIMIENTOS DEL AGUA

Agua Potable

Con la denominación de Agua Potable de suministro público y Agua Potable de uso domiciliario, se entiende la que es apta para la alimentación y uso doméstico: no deberá contener sustancias o cuerpos extraños de origen biológico, orgánico, inorgánico o radiactivo en tenores tales que la hagan peligrosa para la salud. Deberá presentar sabor agradable y ser prácticamente incolora, inodora, límpida y transparente (*Art. 982 – Res MSyAS N°494 del 7.07.94*).

El Agua Potable no está descripta por una monografía de la Farmacopea Argentina pero debe cumplir con los requisitos especificados para *Agua Potable* en *Código Alimentario Argentino. Ley Nacional 18.284/69, Capítulo XII: Bebidas Hídricas, Agua y Agua Gasificada*. Sin embargo, debe analizarse la calidad del Agua Potable en el lugar de manufactura para corroborar su adecuación a los parámetros de calidad establecidos. El agua potable puede ser empleada en la síntesis química y en las primeras etapas de limpieza de los equipos empleados en los procesos farmacéuticos de manufactura a menos que existan requerimientos técnicos específicos o requerimientos de mayor calidad de agua. Es el agua de alimentación definida para la producción de Agua Calidad Farmacéutica.

Agua para Inyectables

El Agua para Inyectables es el agua utilizada para la preparación de formas farmacéuticas de administración parenteral y cualquier otro uso indicado en esta Farmacopea.

Durante la producción y almacenamiento del *Agua para Inyectables* deben tomarse las medidas

apropiadas para asegurar un adecuado control y monitoreo del conteo microbiológico de aerobios totales. En condiciones normales, un límite de acción apropiado es un conteo de aerobios viables de 10 microorganismos cada 100 ml, determinados por filtración por membrana.

El Agua para Inyectables debe cumplir con los requisitos especificados en la monografía de *Agua para Inyectables* en esta farmacopea.

Agua Purificada

El Agua Purificada es el agua para la preparación de todos los medicamentos que no requieran el uso de *Agua para Inyectables* a menos que la monografía del producto especifique otra calidad de agua.

Durante la producción y almacenamiento del *Agua Purificada* deben tomarse las medidas apropiadas para asegurar un adecuado control y monitoreo del conteo microbiológico de aerobios totales. En condiciones normales, un límite de acción apropiado es un conteo de aerobios viables de 100 microorganismos por mililitro, determinados por filtración por membrana.

El Agua Purificada debe cumplir con los requisitos especificados en la monografía de *Agua Purificada* en esta Farmacopea.

CALIDAD DE AGUA SEGÚN EL USO FARMACÉUTICO

La calificación y validación de los sistemas de obtención, almacenamiento y distribución de agua resultan fundamentales para el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Fabricación.

La calidad de agua a emplear se determina en función de la naturaleza y del uso especificado del producto final y de la etapa del proceso en la cual el agua es empleada.

A continuación se especifica la calidad de agua requerida según el uso de la misma.

Agua utilizada como excipiente en la formulación final

El agua es el excipiente más comúnmente empleado en la fabricación de productos farmacéuticos y la calidad requerida depende del uso para el cual esté definido el producto final. En este se distinguen dos grupos: el de productos medicinales estériles y el de productos medicinales no estériles.

Tabla 1. Agua utilizada en la preparación de Productos Medicinales Estériles

Productos	Calidad de Agua Requerida
Parenterales	Agua para Inyectables
Oftálmicos	Agua Purificada
Soluciones de Hemofiltración	Agua para Inyectables
Soluciones de Hemodiafiltración	Agua para Inyectables
Soluciones de Irrigación	Agua para Inyectables
Soluciones para Diálisis Peritoneal	Agua para Inyectables
Soluciones para Nebulizar	Agua Purificada
Preparaciones Óticas y Nasaes	Agua Purificada
Preparaciones de uso dérmico	Agua Purificada

Tabla 2. Agua utilizada en la preparación de Productos Medicinales no Estériles

Productos	Calidad de Agua Requerida
Preparaciones Orales	Agua Purificada
Preparaciones de uso dérmico	Agua Purificada
Preparaciones Óticas y Nasaes	Agua Purificada
Preparaciones de uso Vaginal y Rectal	Agua Purificada
Preparaciones de soluciones concentradas para hemodiálisis	Agua Purificada

Tabla 3. Agua utilizada durante la elaboración de productos medicinales que no se encontrará presente en la formulación final

Elaboración	Calidad de Agua Requerida
Granulación	Agua Purificada
Recubrimiento de Comprimidos	Agua Purificada
Usada en la formulación previo a una liofilización no estéril	Agua Purificada
Usada en la formulación previo a una liofilización estéril	Agua para Inyectables

Tabla 4. Agua utilizada en el lavado de equipos, envases, insertos, tapas y tapones.

Etapas de limpieza	Producto	Calidad de Agua Requerida
Iniciales de lavado	No estéril	Agua Potable
Final de lavado	No estéril	Agua Purificada o la misma calidad de agua que se utiliza en la elaboración del producto si es de mayor calidad que el Agua Purificada.
Iniciales de lavado	Estéril	Agua Purificada
Final de lavado	Estéril no parenteral	Agua Purificada o la misma calidad de agua que se utiliza en la elaboración del producto si es de mayor calidad que el Agua Purificada.
Final de lavado	Estéril parenteral	Agua para Inyectables.

1013. BUENAS PRÁCTICAS DE DISPENSACIÓN EN LA FARMACIA OFICINAL COMUNITARIA Y HOSPITALARIA

Consideraciones Generales

Los medicamentos deben ser dispensados solamente por establecimientos habilitados por la autoridad sanitaria competente y cuyas actividades serán inspeccionadas regularmente por la autoridad jurisdiccional

En el ámbito comunitario y hospitalario, los servicios Farmacéuticos comprenden toda gestión que garantice la adquisición, preparación, conservación y dispensación de los medicamentos, ayudando a la sociedad a emplearlos adecuadamente para el uso previsto y en cumplimiento de la legislación vigente.

Este capítulo introduce términos y definiciones que son normas indispensables en el cumplimiento de las condiciones exigidas por las Buenas Prácticas de Dispensación, lo cual constituye una herramienta que permite establecer criterios que abarcan diversos aspectos para la adquisición, preparación, conservación y dispensación de los medicamentos.

Las Buenas Prácticas de Dispensación no son un elemento estático, todo lo contrario, son metodologías de trabajo susceptibles de una actualización continua.

Glosario

Las definiciones dadas a continuación se aplican a los términos empleados en esta norma. Es posible que tengan significados diferentes en otros contextos.

Servicios Farmacéuticos: resultado tangible o intangible de un proceso en el cual se participa en la investigación, preparación, distribución, dispensación, control y utilización de los medicamentos y otros productos para la salud, ofreciendo información y asesoramiento a quienes los prescriben, indican o usan.

Habilitación de la Farmacia: documento legal emitido por la autoridad sanitaria, que establece la autorización del establecimiento y su director técnico.

Dispensación: es el servicio Farmacéutico que consiste en la entrega del medicamento y la información sobre su buen uso y que incluye la interpretación de una receta en los casos que correspondiere.

Persona autorizada: es del Director Técnico Farmacéutico o el Farmacéutico Auxiliar que él

designa a los efectos de realizar y/o autorizar la dispensación.

Procedimiento operativo para la dispensación: es el procedimiento escrito que contiene las instrucciones para realizar aquellas operaciones que no necesariamente son específicas de la dispensación.

Farmacovigilancia: es la ciencia y actividades relacionadas con la prevención, conocimiento, detección y evaluación de reacciones adversas y otros posibles problemas relacionados con medicamentos.

Problema relacionado con medicamentos: es cualquier evento indeseable que presenta el paciente en el cual está involucrado el tratamiento farmacológico o se sospecha que lo está y que interfiere de manera real o puede interferir en la evolución deseada del paciente.

Intervención farmacéutica: es la estrategia que incluye procedimientos educativos y/o informativos abordados por el Farmacéutico para intentar resolver un problema relacionado con medicamentos, tendiente a mejorar el resultado clínico del tratamiento farmacológico.

Promoción de la Salud: es el proceso que capacita a las personas para controlar y mejorar su salud.

Educación Sanitaria: es un instrumento que posibilita la promoción de la salud. Es el aprendizaje que supone no sólo la transmisión de información, sino también el fomento de la motivación de las habilidades personales y la autoestima, necesarias para adoptar medidas destinadas a mejorar la salud.

Información: es el asesoramiento brindado para prevenir incompatibilidades o interacciones frente a otros medicamentos y/o alimentos, para lograr el cumplimiento de los objetivos terapéuticos buscados, así como también incluye la consulta o derivación del paciente al profesional que corresponda según su incumbencia.

Servicios orientados al medicamento, materias primas, y productos sanitarios, previos a la dispensación en donde el Farmacéutico garantiza la calidad de los productos que dispensa dando cumplimiento a las siguientes actividades:

Evaluación de la procedencia y adquisición: el Farmacéutico es el responsable de garantizar la calidad y legitimidad de los productos que dispense

siendo éstos adquiridos a través de proveedores debidamente habilitados por la autoridad sanitaria.

El Farmacéutico debe además cooperar en la detección y denuncia de medicamentos ilegítimos y de medicamentos con problemas de calidad o efectividad.

Custodia, almacenamiento y conservación: el Farmacéutico asegurará que las condiciones de almacenamiento y conservación sean las adecuadas en cada caso e instrumentará los mecanismos para detectar las fechas de vencimiento previas a la dispensación. Asimismo el Farmacéutico tendrá bajo su custodia todos los productos acorde a las normativas vigentes.

Descarte, devolución, destrucción: el Farmacéutico evitará la adquisición y dispensación de medicamentos y productos para la salud que presenten modificaciones no indicadas expresamente en sus rótulos y/ o prospectos. Se considera que la detección de cambios en el aspecto físico de los medicamentos o sus envases podría ser evidencia de una posible inestabilidad o alteración en su composición, por lo que se debe observar:

- cambios en caracteres físicos como modificaciones de color u olor, coberturas deterioradas, cápsulas rotas, aparición de precipitados, separación de emulsiones, polvos que no se reconstituyen adecuadamente, entre otros;
- modificaciones en el envase primario como pérdida del contenido del envase, deterioro de su aspecto, adulteraciones de fecha de vencimiento, lote, partida o rótulos.
- modificaciones en el envase secundario, como toda evidencia que permita suponer una mala conservación, fallas de impresión, adulteraciones de fecha de vencimiento, lote o partida, ó rótulos.

Comprobadas estas irregularidades, el Farmacéutico deberá abstenerse de dispensar estos medicamentos y notificar a la autoridad sanitaria competente sobre las anormalidades observadas o sospechadas.

Deberá cumplir con los retiros del mercado indicados por la autoridad sanitaria pertinentes e instrumentará los mecanismos necesarios para la devolución de los medicamentos, materias primas y productos sanitarios, así como la eliminación de los residuos peligrosos, acorde a la legislación vigente.

Preparación de medicamentos magistrales y oficinales: el Farmacéutico es responsable de la preparación de medicamentos magistrales y oficinales, dando cumplimiento a las Normas de Buenas Prácticas de Preparación.

1025. BUENAS PRÁCTICAS PARA LA MANIPULACIÓN DE MEDICAMENTOS CITOSTÁTICOS ENDOVENOSOS EN CENTROS ASISTENCIALES

CONSIDERACIONES GENERALES

Los medicamentos citostáticos actúan alterando la capacidad de división celular en forma no selectiva, afectando las células tumorales y también interfiriendo en los circuitos bioquímicos de las células normales, en especial en los tejidos con mayor recambio celular, como por ejemplo, piel, médula ósea, epitelio del tracto gastrointestinal, folículos pilosos y estructuras embrionarias.

La eficacia de la terapia oncológica con fármacos plantea diversos inconvenientes tal como la toxicidad elevada que se manifiesta incluso cuando la aplicación terapéutica es correcta y puede conducir a consecuencias graves si se verifican errores en la dosis, o en el proceso de reconstitución y administración o contaminación por manipuladores.

La mayoría de los tratamientos farmacológicos consisten en una terapéutica combinada con efecto sinérgico de los distintos principios activos citostáticos, con diferente toxicidad, dosis limitante y menor posibilidad de resistencias.

Los medicamentos que se utilizan para el tratamiento del cáncer pueden ser indicados con fines curativos, paliativos, o como coadyuvantes de otras terapias.

Los pacientes con tratamiento oncológico pueden recibir medicación citostática en tres modalidades diferentes de internación: hospitalizado, en internación ambulatoria (Servicio Hospital de Día) y en internación domiciliaria. Esto dependerá del estado general del paciente, de las patologías concomitantes y del tipo de medicación a recibir, y tratándose de internación domiciliaria, de las condiciones culturales y socioeconómicas.

Las unidades de reconstitución de citostáticos de los servicios de Farmacia Hospitalaria y los centros prestadores de Servicios de Farmacia Hospitalaria, son las responsables de proveer las mezclas intravenosas de los medicamentos utilizados en el tratamiento de cáncer para los tres tipos de internación, prevenir la contaminación del medio ambiente durante la reconstitución y proteger al personal de salud durante la manipulación de principios activos citostáticos.

GLOSARIO

Agentes quimioterápicos antineoplásicos: son activos capaces de dañar células malignas afectando también a las células normales del organismo por lo que se los denomina agentes **citotóxicos** y dado que poseen la propiedad de inhibir el crecimiento de tumores malignos, por analogía se los llama **citostáticos**.

Carcinogénico: es toda aquella sustancia que pueda producir cáncer.

Citotóxico: es todo aquel agente que tenga capacidad de producir genotoxicidad, oncogenicidad y mutagenicidad.

Desinfección: este término suele usarse para designar los resultados de la aplicación de agentes químicos sobre objetos inanimados con el fin de eliminar los microorganismos incluyendo formas esporuladas.

Dispensación: es el acto farmacéutico asociado a la entrega y distribución de los medicamentos con las consecuentes prestaciones específicas, como son: el análisis de la orden médica, información para su correcta utilización y preparación de las dosis que se deben administrar.

En este acto, el farmacéutico informa y orienta al paciente, enfermera o médico, sobre el uso adecuado de dicho medicamento. Son elementos importantes de esta orientación, entre otros, el énfasis en el cumplimiento del régimen de dosificación, la influencia de los alimentos, la interacción con otros medicamentos, el reconocimiento de reacciones adversas potenciales y las condiciones de conservación del producto.

Distribución: es el sistema implementado para la entrega intrahospitalaria de los medicamentos requeridos por las unidades de internación u otros servicios del hospital para su posterior administración al paciente.

Dispositivos médicos (material descartable): instrumento, aparato, implemento, máquina, artefacto, implante u otro artículo similar o relacionado, incluidos los componentes, partes o accesorios de éstos.

Dosificación / posología: describe la dosis de un medicamento, los intervalos entre las administraciones y la duración del tratamiento. No debe confundirse con el término dosis.

Dosificación, régimen de: se define como la magnitud de las dosis administradas de un medicamento, el número de ellas y los intervalos de administración.

Dosis: cantidad total de medicamento que se administra de una sola vez o total de las cantidades fraccionarias administradas durante un período determinado.

Dosis, intervalo de: tiempo que transcurre entre una y otra administración de medicamentos en un régimen de dosificación de dosis múltiples.

Dosis Terapéutica: es la que produce el efecto deseado en el paciente; dosis mínima es la menor dosis que produce el efecto terapéutico y dosis máxima es la mayor dosis que puede ser tolerada sin aparición de efectos adversos o tóxicos. Los límites de dosis terapéuticas están dadas por la dosis máxima y dosis mínima e indican el margen de utilización de las drogas.

Dosis Tóxica: es la que produce efectos indeseables o peligrosos.

Establecimiento asistencial: son establecimientos con internación ya sean públicos o privados.

Esterilización: proceso por el cual se eliminan o se destruyen todas las formas viables de microorganismos, basado en una función de probabilidad.

Farmacia hospitalaria: es una especialidad farmacéutica que se ocupa de la selección, preparación, adquisición, control, dispensación, información de medicamentos y otras actividades orientadas a conseguir una utilización apropiada, segura y costo-efectiva de los medicamentos y productos sanitarios, en beneficio de los pacientes atendidos en los establecimientos asistenciales.

Farmacovigilancia: identificación y valoración de los efectos del uso, agudo y crónico, de los tratamientos farmacológicos en el conjunto de una población o en subgrupos de pacientes expuestos a tratamientos específicos. Se debe distinguir entre monitorización y farmacovigilancia.

Forma farmacéutica: es la forma del producto farmacéutico completo. (Por ejemplo. comprimido, cápsula, supositorio, etc.).

Filtro HEPA: filtro de alta eficiencia de partículas de aire compuesto por pliegues de filtros medios separados por lámina o papel corrugado o hoja de aluminio en el que el flujo directo del aire es forzado a través del filtro en un flujo paralelo uniforme. Los filtros HEPA retienen el 99,99 % de las partículas mayores a 0,3 micrones de diámetro.

Mutagénico: agente químico o físico que induce o incrementa mutaciones genéticas por cambios causados en el ADN.

Prescripción: es el acto de expresar qué medicamento debe recibir el paciente, la dosificación

correcta y duración del tratamiento. En el caso de pacientes ambulatorios, el acto de prescripción se traduce en la elaboración de una receta médica; en los pacientes hospitalizados, la prescripción es consignada en la historia clínica.

Reconstitución: es la adición del disolvente sobre un producto en polvo o liofilizado, para lograr su disolución.

Relación riesgo/beneficio: esta relación se aplica al uso de un medicamento, está basada en los datos de eficacia y seguridad, además del uso potencial indebido, severidad y evolución de una enfermedad, etc. El concepto puede ser aplicado a un solo medicamento o en comparaciones entre dos o más medicamentos usados en la misma condición.

Vida útil: es el intervalo de tiempo durante el cual se espera que un medicamento almacenado correctamente satisfaga las especificaciones preestablecidas.

PREPARACIÓN DE CITOSTÁTICOS ENDOVENOSOS

PERSONAL

Selección del personal

El personal debe ser seleccionado y previamente entrenado en la técnica de preparación y manejo de citostáticos.

No podrán ingresar al área personal con procesos infecciosos ni personal dedicado a otras tareas de riesgo ocupacional, como por ejemplo, técnicos radiólogos.

Las mujeres que amamantan o embarazadas no deben trabajar con relación a la manipulación de estos fármacos.

Exámenes de salud para el personal

Uno de los aspectos relacionados con este tema, es el riesgo a que está expuesto el personal sanitario que debe manipular citostáticos. Éste ha sido un motivo de preocupación creciente en los últimos años que tiene su origen en la abundante evidencia científica internacional que indica que la exposición crónica y masiva con estos activos, puede causar efectos mutagénicos, carcinogénicos y teratogénicos. Estos efectos nombrados precedentemente sólo se producen en casos de exposiciones muy altas y no existe evidencia de que ocurran en el caso de niveles bajos exposición. Sin embargo, debe constituir un llamado de atención sobre los posibles peligros que enfrentan los profesionales relacionados a la manipulación de citostáticos.

Existen pocas dudas de que los trabajadores expuestos a agentes citotóxicos al preparar y adminis-

trar las dosis terapéuticas para ser utilizados en la quimioterapia de pacientes con cáncer, pueden absorber cantidades mensurables de los mismos. La absorción se puede realizar por piel, mucosas o pulmones. Adicionalmente, es objeto de controversia los daños que puede causar la absorción involuntaria de pequeñas cantidades de estos agentes.

Distintas variables determinan la posibilidad de intoxicación de los individuos con respecto a estos activos:

- *Características de los Principios Activos*

El riesgo potencial depende de las propiedades fisicoquímicas de los fármacos. No todos los citostáticos son igualmente agresivos. Según diferentes estudios realizados tienen mayor potencial carcinogénico y teratogénico los agentes alquilantes y los derivados de la vinca, considerándose los menos agresivos los antimetabolitos.

- *Susceptibilidad del individuo*

Las distintas generalidades relacionadas con estas variables son la edad, el sexo, el origen étnico, etc.

- *Cofactores*

Tales como hábitos alimentarios o hábitos de vida, como el fumar, pueden alterar la susceptibilidad del individuo a los efectos de estos fármacos.

- *Número de exposiciones*

Tiene que ver con la magnitud de la exposición o la suma acumulada de las mismas.

- *Vías de exposición y efectos*

Vías de exposición

Ingestión

Se puede producir por el consumo de alimentos o bebidas, o el uso de cigarrillos o cosméticos contaminados.

Inhalatoria

Por las partículas aerosolizadas que se forman durante el proceso de reconstitución y preparación de las dosis terapéuticas, ya sea al retirar la aguja del vial, al romper una ampolla, etc.

Absorción dérmica

Por contacto con derrames por ruptura de ampollas o contaminación de los equipos durante la manipulación, administración, limpieza rutinaria o eliminación de los desechos.

Efectos

Locales

Son los que se producen como consecuencia de derrames o accidentes que ponen al citostático en contacto con la piel o las mucosas. Según las características del activo pueden cau-

sar irritación local en caso de citotóxicos irritantes y ulceración con posterior necrosis de la zona en el caso de activos vesicantes, como por ejemplo, antraciclina.

Sistémicos

Son los que se producen tras un largo período de tiempo por repetidas exposiciones a bajas dosis. En este caso es más difícil demostrar la relación causa-efecto por las dificultades que plantea su estudio.

El servicio de Higiene y Medicina Laboral deberá ser informado de todos los accidentes debidos a manipulación de agentes citotóxicos.

El riesgo demostrado de estos agentes de producir los efectos previamente mencionados, unido al hecho de que estas sustancias pueden ser absorbidas como consecuencia de exposiciones profesionales, justifica la adopción de controles periódicos de salud sugiriéndose su realización por lo menos una vez al año.

Deben existir registros de los resultados de los exámenes de salud a los que es sometido el personal en el ámbito del sector.

INSTALACIONES

Es recomendable que el servicio de reconstitución y formulación de citostáticos esté compuesto por los siguientes sectores:

- Vestuario general para el acceso exclusivo del personal del servicio o personas autorizadas.
- Pasillo interno que se comunique con la oficina técnica, depósitos, sector de preparación de materiales y el vestuario específico.
- Depósito de medicamentos.
- Depósito de materiales.
- Sector de preparación de materiales.
- Vestuario específico que comunique el pasillo interno con el área de preparación de soluciones.
- Sector de preparación de soluciones, donde se efectuará la reconstitución y / o formulación de citostáticos.
- Sector de almacenamiento de soluciones terminadas.

Características edilicias de cada sector:

Vestuario general

Deberá ser de acceso restringido, y se instaurará un sistema de registro de control de ingreso.

En el mismo, el personal se quitará la ropa de calle y se colocará ropa diferenciada del resto de los

sectores para tener acceso a los sectores de depósito de materiales, depósito de medicamentos, sector de preparación de materiales y sector de almacenamiento de soluciones terminadas.

Pasillo interno

Su función es comunicar los diferentes sectores de acceso común y servir de ingreso a través de un vestuario específico al área restringida (área de preparación de soluciones).

Depósito de materiales

Deberá ser de acceso restringido.

Poseerá estanterías metálicas o armarios donde almacenar los materiales que se utilizarán en las tareas de reconstitución durante un período no mayor a una semana.

Depósito de medicamentos

Deberá cumplir con lo especificado para el depósito de materiales. En caso de utilizarse medicamentos que requieran refrigeración deberá contar con una heladera de capacidad adecuada al volumen de los medicamentos a almacenar.

Deberá controlarse y registrarse periódicamente la temperatura a fin de verificar que la misma condiga con la necesaria para los productos allí almacenados.

Sector de preparación de materiales

Se utilizará para la desinfección externa de los medicamentos y envases a introducir al sector de preparación.

Deberá contar con una pileta con provisión de agua fría y caliente, y con sifón sanitario.

Se comunicará con el pasillo interno o con el depósito y con el sector de preparación de soluciones mediante pasas bandejas con doble puerta y sistema de enclavamiento que impida la apertura simultánea de las mismas.

Todas las superficies de trabajo serán lisas y libres de discontinuidades. Deberán ser de materiales resistentes a los productos de trabajo y a los desinfectantes de rutina e inactivantes de uso en caso de derrames.

El piso y paredes estarán contruidos con materiales que presenten superficies lisas y libres de discontinuidades, y recubiertos por materiales que resistan el tránsito y los agentes desinfectantes.

Los encuentros cóncavos entre piso, paredes y cielorraso deberán ser redondeados con un radio de curvatura no inferior a los 5 cm para facilitar su limpieza.

El sistema de ventilación asegurará una temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$.

Sector de almacenamiento de soluciones terminadas

En este sector se reciben, almacenan y distribuyen las soluciones terminadas.

Debe poseer una superficie de apoyo de dimensiones adecuadas para disponer en forma ordenada dichas soluciones, ya rotuladas dentro del sector de preparación de soluciones, de modo de evitar confusiones.

Deberá estar equipado con una heladera de ser necesario, una selladora térmica de plásticos para el cierre hermético del envase protector de la mezcla preparada o bolsas plásticas con sistemas de auto sellado.

Sector de preparación de soluciones

Vestuario específico: es recomendable que conste de dos etapas, en la primera de las cuales el personal que ingrese al sector de preparación de materiales se quitará la ropa de circulación, en la segunda etapa se colocará la ropa estéril incluyendo, cofia o escafandra, cubrebotas y se lavará las manos con solución jabonosa desinfectante, colocándose un primer par de guantes quirúrgicos sin talco ubicados por encima del puño y protección respiratoria si fuese necesario. Luego pasará al área de preparación donde se colocará el segundo par de guantes.

El personal, al salir del área de preparación, deberá disponer la vestimenta utilizada de forma de ser inactivada previo a la salida del sector de preparación para ser luego lavada, secada y esterilizada por procedimientos específicos.

Es recomendable que este vestuario cuente con un sistema de duchas para ser utilizadas por el personal después de retirarse la ropa específica del área de preparación y antes de colocarse la de circulación general.

Los materiales constructivos y los detalles de terminación deben ser similares a los ya descriptos para los sectores de preparación de materiales.

Área de preparación: es el local donde se efectuará la reconstitución y/o formulación de los citostáticos.

El mismo deberá poseer la amplitud necesaria para asegurar el movimiento del personal y los materiales, y facilitar las tareas de limpieza y descontaminación de todas las superficies.

Las características referentes a superficies de trabajo, piso, paredes y encuentros cóncavos entre piso, paredes y cielorraso deberán ser las mismas que las descriptas para *Sector de preparación de materiales*.

El sistema de ventilación asegurará una temperatura ambiente de $20 \pm 2^\circ\text{C}$, y el local cumplirá

con un nivel de limpieza clase D o mejor (clase 10.000).

La inyección se realizará mediante filtros HEPA terminales, que serán verificados en forma periódica por personal especializado.

El aire podrá recircularse sólo si no se generan gases o vapores tóxicos, inflamables o explosivos dentro del sector. No se recirculará el aire a otros sectores.

Si el aire o parte de él debe expulsarse al exterior, se hará mediante filtros HEPA colocados en las bocas de extracción del local (en forma previa al motoventilador de extracción) y con un sistema de cambio que evite la exposición del operador a los productos allí retenidos.

Este local poseerá una presión diferencial negativa de 15 a 25 Pa respecto del vestuario.

El sistema de iluminación deberá ser de tipo estanco y quedar a ras del cielorraso.

Todas las acometidas de servicios deberán ser selladas en su punto de ingreso al sector, a fin de evitar la entrada de contaminantes.

Los residuos peligrosos se deben descartar en envases plásticos de cierre hermético y luego en bolsas rojas de 50 a 100 µm para su posterior incineración.

Las operaciones que involucren citostáticos deberán ser realizadas dentro de gabinetes de seguridad biológica clase II del tipo adecuado, siendo de extracción total (tipo B2) si durante las operaciones se generan gases o vapores peligrosos.

En caso contrario, será suficiente con un gabinete clase II tipo A/B3.

Los mismos deberán ser construidos de acuerdo a la normativa vigente, y deberán ser reverificados por personal especializado en forma periódica.

Controles ambientales

- Controles de partículas

Se deberá efectuar un control de la cantidad de partículas inertes y tamaño de las mismas por medio de instrumental electrónico. Dicho control debe efectuarse, al menos, una vez al año y toda vez que dentro del área se produzcan modificaciones significativas.

- Controles microbiológicos

Los controles ambientales se realizarán por captación espontánea mediante placas de Petri o captación forzada para determinar la biocarga del área. Los controles de superficies planas se harán mediante placas de impresión y los de superficies irregulares (manijas de puertas y aberturas) mediante hisopado de las mismas.

Estos controles deberán ser efectuados como mínimo cada seis meses o inmediatamente después

de realizar modificaciones en el área, reparaciones o servicios técnicos de mantenimiento en cabinas de flujo laminar o cualquier otro cambio significativo.

Se establecerán niveles de alerta y acción, con exhaustiva revisión para determinar causales, y medidas correctivas, aplicadas de manera rigurosa para volver a los niveles preestablecidos.

Controles al personal

- Determinación de las destrezas del personal

Método: para este fin se prepararán equipos de entrenamiento que deberán contar con ampollas conteniendo una solución fluorescente incolora a la luz visible. Se procederá a realizar una simulación de trasvasamiento de contenidos y operaciones de llenado aséptico observando, luego de finalizada la tarea, la superficie de la cabina o lugar de simulación con luz ultravioleta. En caso de no cumplirse el estándar de calidad interno se procederá a un nuevo entrenamiento del personal. Se deberá establecer un monitoreo cada seis meses registrándose los datos obtenidos.

EQUIPAMIENTO

El equipamiento necesario para la Reconstitución de medicamentos citostáticos incluye **equipos de aire unidireccional vertical o Cabinas de seguridad biológica de Clase II**.

Los gabinetes de seguridad biológica Clase II son equipos que se distinguen por poseer una abertura anterior, por la que el operador introduce sus manos y antebrazos para manipular objetos en su interior.

En estos equipos se combinan dos necesidades o características: se protege al producto del operador y del ambiente, y se protege al operador y al ambiente del producto.

Si bien todos los gabinetes de seguridad biológica Clase II poseen un flujo laminar vertical, hay que considerar que existen equipos de flujo laminar vertical para protección del producto que no protegen ni al operador ni al ambiente.

Los gabinetes de seguridad biológica Clase II tipo B3 poseen un filtro HEPA de inyección ubicado en la cara superior de la zona de trabajo, que envía aire en flujo unidireccional sobre la superficie de trabajo. La velocidad de aire de esta cortina no debe ser, en ningún punto, inferior a los 0,50 m/s. El aire aspirado se distribuye un 70 % hacia el filtro HEPA de inyección recirculando internamente, mientras que el 30 %, que es el mismo caudal aspirado desde el exterior, es expulsado al exterior del ambiente a través de un segundo filtro HEPA de extracción.

SANEAMIENTO

La limpieza del área y equipos debe ser realizada por personal calificado perteneciente a la unidad, con una frecuencia diaria, previo al inicio de las actividades y al finalizar la jornada de trabajo o cuando se requiera de acuerdo a las manipulaciones realizadas.

Dada la índole de trabajo realizado en la zona de cabinas de flujo laminar de la Unidad de Reconstitución de Citostáticos y el riesgo que puede implicar para los pacientes la acumulación de partículas, la limpieza de dicha zona se hará de acuerdo a Normas que se establezcan en el sector para dar cumplimiento a los indicadores de calidad preestablecidos verificando que la misma sea efectiva. Se deberá contar con los registros correspondientes.

PROCEDIMIENTOS DE MANIPULACIÓN

Se entiende como manejo de citostáticos al conjunto de operaciones que incluyen desde la recepción del medicamento hasta la eliminación de los residuos. La manipulación debe realizarse de modo de asegurar la protección al paciente, al ambiente y al personal de salud encargado de la preparación de estos fármacos.

Comprende las siguientes operaciones

- Recepción y almacenamiento de medicamentos
- Control farmacéutico de la indicación médica
- Generación de la orden de preparación, reconstitución de citostáticos y preparación de la dosis terapéutica
- Dispensación y distribución
- Recomendaciones para la administración.

La recepción de **medicamentos citostáticos** se realizará siguiendo el mismo procedimiento que para otras especialidades medicinales (en lo referente al aspecto, integridad del envase, caducidad, etc.)

Para su almacenamiento se deberá reservar un sector especial separado para este tipo de fármacos y contar con un refrigerador, de ser necesario. Los envases deberán disponerse de forma tal que se prevenga su ruptura por causas accidentales. Se tendrán en cuenta las características de cada medicamento: termolábiles, fotosensibles, etc.

El **material** deberá ser almacenado en el depósito correspondiente, limpio y cuando corresponda, estéril.

Cuando el material sea recibido en cajas, las mismas deberán ser eliminadas y reemplazadas por

otro contenedor de material apropiado (que no libere partículas).

Se deberá llevar un informe escrito de las prescripciones médicas que se reciban y deberán ser interpretadas por el profesional farmacéutico del servicio.

El farmacéutico debe validar la prescripción, cuando se observe alguna diferencia en la dosis, inestabilidad por el tipo de solvente indicado o falta de algún dato del paciente se comunicará con el médico tratante.

Se confeccionará una **Planilla de Registro** por paciente donde conste número de historia clínica, nombre del médico, datos de filiación del paciente, diagnóstico, ubicación dentro de la institución o el domicilio (si se trata de un paciente ambulatorio), nombre genérico del medicamento a preparar, dosis, vehículo, volumen total, vía de administración, protocolo de indicación médica y día del ciclo.

A partir de la prescripción médica se confeccionará un **Orden de Preparación** que deberá incluir, además de los datos mencionados anteriormente, las dosis del medicamento en las unidades correspondientes (g, mg, UI, etc.), el solvente para la reconstitución (si se trata de un frasco ampolla con liofilizado o polvo), el volumen a utilizar de esa reconstitución y el volumen total en ml y tipo de solvente para hacer la dilución. También se deben registrar, tanto en la Orden de Preparación, para información del farmacéutico, como en el rótulo, para comunicación a enfermería, las alertas de incompatibilidades, estabilidad, condiciones de conservación, ritmo de infusión, fecha y horario de caducidad, y otras observaciones.

Se recomienda redactar un manual de procedimientos donde se contemplen todas las operaciones que se realizan en el servicio.

Los viales deben ser venteados con una aguja para eliminar presiones que pudieran provocar proyecciones del activo o aerosoles hacia el operador. Para evitar sobrepresiones en la etapa de reconstitución de los viales con el objeto de reducir el riesgo de formación de aerosoles, se recomienda utilizar agujas con filtro de venteo o la técnica de presión negativa introduciendo dentro del vial un volumen de aire idéntico al volumen del líquido a extraer. Colocar una gasa estéril alrededor de la aguja y sobre el tapón del vial cuando se retira la solución de citostático del mismo. Las proyecciones de medicamentos citostáticos hacia las paredes o el filtro de la cabina de flujo laminar puede provocar su deterioro y riesgo de toxicidad. El volumen final en la jeringa se mide antes de retirar la aguja del vial, con el fin de no descartar medicación al medio ambiente. Las jeringas y los recipientes que contie-

nen las soluciones deben ser rotuladas de inmediato. Las jeringas y agujas usadas deben ser descartadas en un dispositivo dispuesto para ese fin no reutilizable. Todos los elementos utilizados deben ser desechados en bolsas rojas reservadas para tal fin. Se debe registrar inmediatamente las preparaciones efectuadas, indicando cantidad preparada, datos del paciente y técnico responsable en un libro habilitado a tal fin.

ESTABILIDAD

Se recomienda consultar bibliografía específica y confeccionar protocolos de estabilidad y compatibilidad de los medicamentos citostáticos.

CONTROL DE CALIDAD

Se deberá establecer un programa de control periódico referente a la identificación del principio activo y las dosis.

La reconstitución de fármacos citostáticos puede ocasionar errores de medicación que impliquen graves consecuencias para los pacientes debido a su estrecho margen terapéutico. En el proceso global de tratamiento con quimioterapia existen distintos pasos en los cuales se puede producir un error potencial. Por este motivo, es necesario establecer estrategias para reducir la probabilidad de que esto último ocurra. La preparación es uno de los puntos más críticos de todo el proceso, y por tanto resulta imprescindible la implementación de controles de calidad para reducir la probabilidad de que se produzca un error. Se han establecido diferentes sistemas para controlar la calidad de los preparados: control de volúmenes, control de viales utilizados, control de pesada y controles de rótulo. No obstante, no existe hasta el momento ningún método infalible para detectar errores de dosificación.

- **Inspección visual**

Se deberá inspeccionar cambio de coloración, presencia de partículas visibles, turbidez, formación de gas, integridad del envase y del cierre.

- **Control de rótulo**

En el proceso de preparación, además de establecer medidas para disminuir errores de dosificación con el rotulado de los viales previo a su preparación, también es importante establecer un control de etiquetado previo a la dispensación por comparación del rótulo con la prescripción y la orden de preparación.

DISTRIBUCIÓN Y DISPENSACIÓN

El profesional farmacéutico es responsable de la distribución y dispensación de los medicamentos citostáticos preparados:

- Se deberán entregar corroborando nombre del paciente y número de cama o habitación y servicio, dispuestos dentro de un envase herméticamente cerrado y rotulado.
- Se confeccionará un listado global diario de los pacientes que reciben tratamiento y de los medicamentos citostáticos preparados. Estos listados servirán como control de dispensación y serán firmados por la enfermera o auxiliar que los reciba.
- Se recomienda que el producto terminado sea entregado con el dispositivo médico adecuado.

ADMINISTRACIÓN

La administración estará a cargo del personal de enfermería calificado.

El farmacéutico especializado en oncología, trabajará en forma conjunta con el equipo de salud para lograr la administración óptima del medicamento al paciente.

Se enumerarán a continuación algunas recomendaciones generales para la administración por parte del personal de enfermería y sobre el manejo de las excretas.

Recomendaciones para la administración de citostáticos

- Utilizar guantes estériles y descartarlos después de cada uso.
- Utilizar barbijo para protección de pacientes inmunocomprometidos.
- Usar camisolín de mangas largas con puños elastizados, tener en cuenta que los guantes deben ir por debajo del puño del camisolín.
- Controlar la administración, para detectar posibles extravasaciones.
- La orina y heces de estos pacientes deben manipularse con sumo cuidado y usando guantes.

BIOSEGURIDAD

Exposición accidental

Después de una exposición sin contacto con la piel, se deben quitar los guantes y prendas contaminadas, lavar las manos y colocar guantes nuevos. Si el citostático tomara contacto directo con la piel del manipulador se recomienda seguir las indicaciones descriptas en la *Tabla* . Si el área afectada está lacerada o irritada es conveniente consultar inme-

diatamente al médico. En el caso de producirse un corte con aguja o con vidrio hay que lavar la zona con abundante agua tibia y jabón, y consultar inmediatamente al médico.

Derrames

Pueden producirse derrames por accidente, durante la preparación, administración o transporte de los medicamentos citotóxicos. Todo el personal implicado en la limpieza de un derrame debe llevar material protector (barbijo de baja porosidad, doble guante y camisolín). El material conteniendo el agente citotóxico, se considerará contaminado y por tanto, se colocará en una bolsa, de polietileno color rojo de no menos de 100 µm de espesor, para su destrucción.

El equipo para derrames estará convenientemente acondicionado e identificado en un lugar fácilmente accesible.

Composición:

- Protocolo de actuación en caso de derrames
- Barbijo de baja porosidad
- Anteojos protectores
- Doble par de guantes, de polivinilo o neopreno
- Botas o cubre calzados
- Pala para recolectar restos de material y vidrios
- Doble bolsa descartable para restos de citostáticos
- Paños y gasas absorbentes
- Escobilla recolectora
- Kit de neutralizantes químicos
- Sachet de agua

Desechos

Los desechos deben colocarse en recipientes de paredes rígidas para su posterior incineración.

Nunca deberán arrojarse medicamentos ni desechos citostáticos a la red cloacal o desagües.

Tabla - Recomendaciones a seguir en caso de exposición accidental con contacto directo con la piel.

[NOTA: en todos los casos de contacto con citostáticos se recomienda consultar rápidamente al servicio de Medicina Laboral.]

<i>Farmaco</i>	<i>Acción en la piel</i>	<i>Norma de actuación en caso de contacto con la Piel</i>
Actinomicina - D	Vesicante	Sumergir 10' en buffer fosfato , luego lavar con agua y jabón
Amsacrina	Vesicante	Lavar con agua y jabón
Bleomicina	Tóxico local , Alergígeno	Lavar enérgicamente con agua y jabón
Carboplatino	No Irritante	Lavar con agua
Carmustina	Vesicante	Lavar con agua . Si aparece irritación aplicar solución de CO ₃ HNa
Ciclofosfamida	Irritante	Lavar con agua
Cisplatino	Potencial alergénico	Lavar con abundante agua
Citarabina	Irritante	Lavar con abundante agua y jabón
Dacarbazina	Irritante	Lavar con agua y jabón
Daunorubicina	Irritante - Vesicante	Lavar rápidamente con agua y jabón
Doxorubicina	Irritante - Vesicante	Lavado abundante con agua y jabón
Epirubicina	Irritante - Vesicante	Lavado abundante con agua y jabón
Etopósido	Irritante	Lavar con abundante agua
Fluorouracilo	Inflamación en la piel	Lavar con agua
Idarubicina	Irritante - Vesicante	Lavado abundante con agua y jabón
Ifosfamida	Irritante	Lavar con agua
Irinotecan	No Irritante	Lavar con agua
L - Asparaginasa	No Irritante	Lavar con agua
Mecloretamina	Vesicante	Lavar rápidamente con agua y jabón

Melfalán	Vesicante	Lavar rápidamente con agua y jabón
Metotrexato	No Vesicante	Lavado con abundante agua
Mitomicina	Vesicante	Lavar con CO_3HNa 1M , luego con abundante agua y jabón
Mitoxantrona	Irritante	Lavar con agua
Oxaliplatino	No Irritante	Lavar con agua
Paclitaxel	Irritante	Lavar con abundante agua
Tenipósido	Irritante	Lavar con abundante agua
Thiotepa	No Irritante	Lavar con agua
Vinblastina	Irritante - Vesicante	Lavar con abundante agua
Vincristina	Irritante - Vesicante	Lavar con abundante agua
Vindesina	Irritante - Vesicante	Lavar con abundante agua

1027. BUENAS PRÁCTICAS DE PREPARACIÓN DE MEDICAMENTOS MAGISTRALES

ALCANCE Y DEFINICIONES

Buenas Prácticas de Preparación de medicamentos magistrales: es el conjunto de normas y procedimientos que contribuyen a asegurar la calidad de los medicamentos magistrales.

Medicamento magistral: es todo medicamento prescripto en una receta magistral para un paciente individualizado, posteriormente preparado, envasado y rotulado por un Farmacéutico en el laboratorio de su Farmacia y dispensado en la misma.

Receta magistral: la receta magistral debe indicar claramente la composición cuali-cuantitativa de los principios activos, utilizando los nombres establecidos en la Farmacopea Argentina o la Denominación Común Internacional (DCI) de la OMS. Sólo se aceptan sinonimias contempladas en la Farmacopea Argentina. Debe respetar las dosis habituales y máximas, indicadas en la Farmacopea o, en su ausencia en bibliografía internacional de referencia.

Debe indicar la vía e indicaciones de administración, los datos completos del profesional prescriptor, los datos del paciente y la fecha de emisión.

CAPÍTULO 1°

PERSONAL

La preparación de medicamentos magistrales puede ser efectuada por el Farmacéutico Director Técnico o por los Farmacéuticos Auxiliares. La Farmacia debe estar debidamente habilitada a tal efecto por la Autoridad Sanitaria jurisdiccional competente.

El Director Técnico es el responsable de la calidad y seguridad de los preparados magistrales, siendo por ello responsable del origen, la calidad y la pureza de los principios activos, excipientes, envases y otros materiales que utilice, del diseño galénico, de la preparación de los productos y del aseguramiento de su calidad.

El Director Técnico debe organizar las tareas relacionadas con la preparación de medicamentos magistrales, debiendo precisar por escrito las funciones de los Farmacéuticos Auxiliares y del resto del personal, y supervisar su cumplimiento.

El Director Técnico debe asegurar la aptitud de todo el personal involucrado en la preparación de medicamentos magistrales y el cumplimiento por

parte de éste de las Buenas Prácticas de Preparación de Medicamentos Magistrales.

CAPÍTULO 2°

LOS PREPARADOS MAGISTRALES

Para la preparación de cada medicamento magistral es necesario contar con la receta correspondiente, la cual deberá estar completa en todas sus partes y contener toda la información necesaria para llevar a cabo la preparación y rotular adecuadamente la misma, correspondiendo al Director Técnico completar la fórmula con los excipientes adecuados, debiendo respetar las dosis habituales y máximas recomendadas para los principios activos.

La preparación del medicamento magistral debe registrarse en el libro recetario.

Por la propia naturaleza de estos medicamentos y el conocimiento específico que dispone el Farmacéutico que lo prepara, es de su competencia proveer al paciente la información necesaria para su correcta utilización y conservación.

CAPÍTULO 3°

LABORATORIOS

3-1 Consideraciones generales

La preparación y el control de los preparados magistrales deben efectuarse en laboratorios que forman parte de la estructura edilicia de la Farmacia y estar emplazados en salas totalmente independientes del lugar de atención al público, separados del depósito y aislados de otras dependencias de la Farmacia.

Todas las áreas de la Farmacia destinadas a las preparaciones magistrales deben contar con espacios adecuados para la disposición ordenada de los equipos y materiales, y deben poseer condiciones de temperatura y humedad apropiadas.

3-2 Instalaciones

Para la preparación de medicamentos magistrales la Farmacia debe disponer de un laboratorio general, destinado a la preparación de formas farmacéuticas no estériles, al fraccionamiento de materias primas y excipientes y al aseguramiento de la calidad, pudiendo contar con otros laboratorios especiales.

3-3 Características

El laboratorio debe contar con buena iluminación, adecuada renovación de aire y mallas metálicas en todas las aberturas de ventilación e instrumentos para medir la temperatura y humedad del ambiente de trabajo. Sus pisos, paredes y

techos deben ser lisos con bordes sanitarios y las mesas de trabajo deben ser lisas, impermeables y resistentes a agentes químicos.

Los laboratorios especiales deben cumplir con requisitos adicionales que los hagan aptos para la actividad a desarrollar.

3-4 Materiales y Equipos

Deben ser acordes con el tipo de medicamentos a preparar, suficientes en cantidad y calidad y apropiadamente acondicionados e instalados. En los equipos que requieren calibración, ésta debe realizarse con la periodicidad adecuada y su calibración debe verificarse y documentarse regularmente.

3-5 Higiene y Seguridad

La Farmacia debe contar con directrices escritas sobre higiene y seguridad, las cuales deben ser acordes con el tipo de medicamento a preparar y exhibirse en lugar visible del laboratorio. El Director Técnico es responsable de generar, documentar, hacer cumplir y llevar un registro del cumplimiento de dichas directrices.

3-6 Limpieza

La Farmacia debe contar con procedimientos de limpieza del área de preparación de medicamentos magistrales acordes con el tipo de preparaciones que se realicen. El Director Técnico es el responsable de generar y documentar dichos procedimientos y de asegurar y documentar debidamente su cumplimiento.

3-7 Residuos

La Farmacia deberá contar con mecanismos para el manejo interno y la disposición de residuos considerados peligrosos. El Director Técnico es responsable de generar e implementar los procedimientos apropiados y necesarios para tal fin y de asegurar y documentar debidamente su cumplimiento.

CAPÍTULO 4°

DOCUMENTACIÓN

4-1 General

La documentación constituye una parte fundamental del sistema de aseguramiento de la calidad. Son aceptables los registros computarizados y los producidos mediante microfilmación.

Toda la documentación referida a materias primas y excipientes debe utilizar los nombres oficiales de la FA o la Denominación Común Internacional (DCI) para sustancias no codificadas.

4-2 Manuales, procedimientos y registros

La Farmacia debe contar con un manual operativo general y manuales de uso, mantenimiento y calificación de sus equipos.

La Farmacia debe poseer procedimientos operativos estandarizados para el uso de cada uno de sus equipos, para la preparación de medicamentos magistrales de uso corriente y para las actividades de limpieza, disposición de residuos, higiene y seguridad.

La Farmacia debe contar con registros individuales de entrenamiento y calificación del personal.

En la Farmacia se deben almacenar los registros de mantenimiento y calificación de equipos, y los registros que permitan verificar el cumplimiento de las actividades de limpieza, disposición de residuos, higiene y seguridad.

En la Farmacia se debe llevar todo libro oficial que asegure y avale el debido cumplimiento de las regulaciones vigentes.

4-3 Materias primas, envases y materiales de acondicionamiento

Todos los materiales que ingresan a la Farmacia para ser empleados en la preparación, envasado y acondicionamiento de medicamentos deben contar con una ficha individual de registro que incluya la fecha de ingreso.

Toda materia prima y excipiente que ingresa a la Farmacia debe contar con su correspondiente certificado de análisis del proveedor firmado por su Director Técnico; caso contrario, el Director Técnico de la Farmacia deberá realizar los controles pertinentes.

La documentación correspondiente a todos los materiales utilizados en la preparación de los medicamentos magistrales debe ser debidamente archivada.

CAPÍTULO 5°

MATERIAS PRIMAS, ENVASES Y MATERIAL DE ACONDICIONAMIENTO

La calidad de las materias primas, envases y materiales de acondicionamiento inciden en la calidad del producto final, por lo que el Farmacéutico debe tener especial cuidado en todos los aspectos del manejo de los mismos.

5-1 Materias primas

Sólo pueden ser empleadas aquellas materias primas, principios activos y excipientes, codificadas en el Código ANMAT o descritas en textos de reconocida jerarquía.

Todas las materias primas que ingresan a la Farmacia deben ser puestas en cuarentena, debidamente rotuladas y en una ubicación especial, hasta tanto se haya verificado su identidad con la documentación que respalda su calidad. El Director Técnico es responsable de la realización de todo esfuerzo razonable en procura de la identificación

de toda materia prima que ingresa a la Farmacia. El período de cuarentena finaliza con la aceptación o rechazo de la materia prima.

Las materias primas rechazadas deben ser almacenadas separadamente, hasta su disposición como residuo o devolución al proveedor.

Toda materia prima que haya superado la fecha de reválida o reanálisis, (ver 1040. *Estudios de Estabilidad*) debe ser puesta en cuarentena hasta tanto se determine analíticamente su aptitud y una nueva fecha de reanálisis; en caso de no ser apta debe almacenarse separadamente para su disposición como residuo.

La utilización, en casos debidamente justificados, de una especialidad medicinal como materia prima, para la preparación de un medicamento magistral, quedará a criterio del Director Técnico.

5-2 Rotulado

Todo envase de materia prima o excipiente debe contener todos los datos que permitan su correcta identificación, debiendo consignarse de manera obligatoria su nombre, proveedor, número de lote o partida, fecha de reanálisis y número de registro.

5-3 Almacenamiento

Las materias primas deben ser almacenadas bajo condiciones apropiadas, que aseguren su estabilidad durante su período de vida útil. (ver *Consideraciones Generales*)

5-4 Envases

El medicamento magistral debe ser envasado en envase apto (ver *Consideraciones Generales*, 420. *Envases primarios de plástico* y 430. *Envases de vidrio*), de acuerdo a las propiedades físicas y químicas del preparado farmacéutico, de modo de evitar se alteren la calidad, la concentración o la pureza de la preparación. Se debe considerar la posible interacción de los productos activos con el envase.

CAPÍTULO 6°

PREPARACIÓN

6-1 Diseño de la fórmula

La correcta preparación de una fórmula magistral comienza con el diseño de la misma, tras la recepción de la receta magistral.

La fórmula debe evaluarse para determinar la factibilidad de su preparación y debe emplearse un diseño galénico que tenga en cuenta el comportamiento fisicoquímico de sus componentes, sus posibles incompatibilidades y las eventuales interacciones con el envase.

Para el ajuste de la fórmula cuantitativa se debe tener en cuenta la expresión correcta de la dosis

establecida en el presente Código o en la bibliografía internacional de referencia.

6-2 Preparación del medicamento magistral

Debe hacerse en una zona de trabajo limpia y libre de cualquier producto, material o documento ajeno a la preparación, debiendo estar asegurada previamente la provisión de todos los elementos y documentación necesarios como así la limpieza y el adecuado funcionamiento de los equipos a utilizar.

6-3 Vencimiento del medicamento magistral

Los preparados magistrales se realizan para una administración a plazo definido y corto, por lo que deben poseer fechas de vencimiento asignadas acordes al período de tratamiento.

6-4 Rotulado

Los medicamentos magistrales deben estar debidamente rotulados (ver *Consideraciones Generales*) para asegurar su correcta identificación, haciendo constar en el rótulo la composición cuali-cuantitativa de sus principios activos, la composición cualitativa de sus excipientes, su forma farmacéutica y su vía de administración, posología y condiciones de conservación, fecha de preparación y vencimiento, y su número de registro en el libro recetario, como así datos del paciente, del médico que lo prescribió, la Farmacia donde se preparó y su Director Técnico.

CAPÍTULO 7°

ASEGURAMIENTO DE CALIDAD

Se debe poner especial énfasis en asegurar la calidad de todos los pasos de la preparación, documentando apropiadamente cada uno.

Para las diferentes formas farmacéuticas, se exigen los siguientes ensayos:

7-1 Cápsulas y comprimidos

Aspecto

Control de peso

Prueba de desintegración

7-2 Polvos

Aspecto

Control de peso

Reconstitución: en el caso que sea aplicable.

7-3 Inyectables en ampollas y viales

Aspecto y examen de partículas por observación visual.

pH del inyectable.

Control de cierre de las ampollas.

Control de contenido.

Control de esterilidad, para inyectables obtenidos por llenado aséptico.

Validación de procesos de esterilización para inyectables obtenidos por esterilización final.

Control de endotoxinas bacterianas. Se debe realizar para aquellos preparados que por la naturaleza de sus componentes, por el volumen de administración, o por las particularidades del tratamiento, así lo justifiquen.

7-4 Cremas, geles, ungüentos y pastas

Aspecto

pH

Control de contenido.

7-5 Supositorios y óvulos

Aspecto y homogeneidad por examen visual

Control de peso

Tiempo de fusión o Prueba de Disgregación

7-6 Soluciones, suspensiones y emulsiones (orales y tópicos)

Aspecto

pH

Hermeticidad del cierre

Control de contenido

7-7 Observaciones

Los preparados no inyectables estériles deben cumplir con el ensayo de esterilidad o la validación del proceso de esterilización según corresponda. Los colirios deben cumplir las condiciones de inyectables con excepción de endotoxinas bacterianas.

CAPÍTULO 8º

FUENTES DE INFORMACIÓN

La Farmacia debe disponer de la última edición de la FA, recomendándose además otros códigos y textos actualizados de reconocida jerarquía, que provean una razonable cobertura de información específica.

Deberá contemplar disponer de los medios apropiados para acceder a bases de datos y centros de información sobre medicamentos que provean información farmacéutica y farmacoterapéutica actualizada y pertinente que contribuyan a garantizar la calidad y seguridad de los medicamentos.

CAPÍTULO 9º

Las Farmacias que preparan medicamentos magistrales, además de cumplir las Buenas Prácticas de Preparación de medicamentos magistrales establecidas en este Código, deberán cumplimentar los requerimientos legales establecidos por la Autoridad Sanitaria jurisdiccional competente para este tipo de actividades.

1030. CRIADEROS DE POLLOS LIBRES DE PATOGENOS ESPECIFICADOS PARA LA PRODUCCIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DE LAS VACUNAS

Cuando se especifica en una monografía, los pollos, embriones o cultivos de células utilizados para la producción o control de calidad de vacunas se deben obtener a partir de huevos producidos por criaderos de pollos libres de patógenos especificados (LPE).

PRINCIPIOS GENERALES Y MÉTODOS

Un grupo de pollos LPE se define como aquel conjunto de aves de un mismo criadero y que por tanto comparten el mismo ambiente y son atendidos por las mismas personas, las cuales no tienen contacto con ningún otro grupo de pollos que no sea LPE.

Para los criaderos LPE establecidos sobre una base de rotación, la eclosión y la cría de todos los reemplazos se deben realizar siempre en el gallinero de ambiente controlado.

El criadero debe mantenerse en condiciones que reduzcan al mínimo el riesgo de contaminación. No puede estar situado en la proximidad de criaderos de aves no-LPE, debiendo disponer de instalación de aislamiento provista de aire filtrado con presión positiva. Se deben tomar las medidas oportunas para impedir el acceso de roedores, aves silvestres, insectos y personas no autorizadas.

El personal cuya entrada esté autorizada no debe tener ningún contacto con otras aves o con agentes que pudieran infectar al criadero. Se recomienda al personal al cuidado del criadero ducharse y cambiarse de ropa o vestir ropa de protección antes de entrar en la instalación de cría de los pollos.

Los objetos que se introducen en el gallinero deben estar esterilizados. El alimento debe someterse a un tratamiento adecuado a fin de evitar la introducción de microorganismos indeseables, y el agua debe ser clorada. No se debe administrar medicación que pueda interferir con la detección de enfermedades en el criadero.

Debe llevarse un registro permanente del estado de salud general del criadero, investigándose cualquier anomalía que surja. Los factores objeto de seguimiento incluyen la morbilidad, la mortalidad, el estado físico general, el consumo de alimento, la producción diaria de huevos y la calidad, fertilidad y capacidad de eclosión de los mismos. Los huevos sucios deben descartarse; puede desinfectarse la superficie de los huevos limpios mientras están todavía calientes.

El criadero se inicia con animales, para los que se haya demostrado que están libres de agentes infecciosos de transmisión vertical.

1033. CUIDADOS PALIATIVOS

Introducción

Los Cuidados Paliativos surgen en la década del 50 como una respuesta científica y humanista para los enfermos adultos con cáncer avanzado y terminal. El fracaso en la farmacoterapia contra el dolor en los pacientes agonizantes genera el nacimiento de una nueva especialidad en donde los fármacos opioides cobran protagonismo.

El cambio del objetivo terapéutico de curar por el objetivo de brindar alivio tanto del dolor como de cualquier otro síntoma que tuviera el paciente y el compromiso de acompañamiento para él y su familia durante el transcurso de su enfermedad son los pilares básicos de la Medicina Paliativa. A éstos debemos agregar el Cuidado de los que asisten al enfermo; éste constituye el tercer pilar en el cual se establecen las estrategias que permiten al equipo de salud que asiste a estos enfermos y familias no agotarse en el trabajo.

Dar jerarquía e importancia a los síntomas y su alivio frente a una enfermedad que no tiene posibilidades de curación es el mayor aporte que esta nueva especialidad ha dado a la medicina a finales del siglo pasado.

El modelo se extendió hacia la asistencia a otras enfermedades y grupos de pacientes. Enfermedades crónicas evolutivas: Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica, enfermedades neurológicas invalidantes, cardiopatías, enfermos con Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (HIV), etc.

En Pediatría desde su comienzo a fines de la década del 70 se aplicaron no sólo para niños con enfermedad terminal sino también para niños con enfermedades crónicas amenazantes para la vida (enfermedades genéticas, neurológicas evolutivas, Cardiopatías, Fibrosis Quística Pulmonar, etc.). Sus bases filosóficas y metodológicas son iguales: alivio de síntomas, acompañamiento del niño y su familia y cuidado del equipo asistencial.

Los Cuidados Paliativos por lo tanto, se ocupan de la asistencia de personas con enfermedad en etapa incurable y terminal, a fin de garantizar la máxima calidad de vida posible al enfermo y a su grupo familiar.

La Organización Mundial de la Salud define a los Cuidados Paliativos como la *“asistencia integral, individualizada y continuada de las personas enfermas en situación avanzada y terminal, teniendo en el enfermo y su familia la unidad a tratar, desde un punto de vista activo, vivo y rehabilitador con objetivos de confort”*.

Los Cuidados Paliativos son brindados por

equipos interdisciplinarios de salud, que deben garantizar:

1. *Control de síntomas*: el dolor y un conjunto de síntomas discapacitantes aparecen con marcada frecuencia en estos enfermos: su alivio apropiado es una de las funciones principales del programa, mejorando los síntomas y el nivel de actividad.

2. *Acompañamiento*: se trata de la táctica de cuidados psicológicos y espirituales que, con absoluto respeto a la personalidad y las creencias de los pacientes y sus familiares, facilita el nivel de adaptación a la situación presente y ayuda a prever complicaciones evitables (ej.: claudicación de la familia, trastornos en los niños, duelo patológico, imposibilidad de hallar un sentido personalizado a la dolencia).

3. *Cuidado del equipo asistencial*, tercer pilar de la medicina paliativa estableciendo estrategias que permitan al equipo de salud que asiste a estos enfermos y familias no agotarse por el trabajo.

DOLOR

“El dolor es una desagradable experiencia sensorial y emocional que se asocia a un daño real o potencial de los tejidos o que se describe en términos de dicho daño”. (Asociación Internacional para el Estudio del Dolor)

El dolor es siempre subjetivo. Cada individuo aprende a aplicar este término a través de experiencias traumáticas en los primeros años de vida. Indudablemente se trata de una sensación en una o más partes del cuerpo, pero también es siempre desagradable y por lo tanto supone una experiencia emocional.

Generalmente se asocia el dolor a la llegada de un estímulo nociceptivo al Sistema Nervioso Central. Sin embargo existen ocasiones en las que el cerebro puede generar dolor en ausencia de esta aferencia. Esto es debido a la existencia en el cerebro de una representación de la imagen corporal denominada neuromatriz.

Es fácil de comprender entonces que la percepción del dolor puede ser modificada de varias maneras, ya sea modificando las aferencias (analgésicos, kinesioterapia) o las diversas influencias corticales (psicoterapia, técnicas cognitivas conductuales) que recibe la neuromatriz.

Componentes del dolor

Se pueden distinguir cuatro componentes del síntoma:

Nocicepción: es la detección del daño tisular por parte de transductores especializados ubicados en las fibras Aδ y C (nociceptores). Estos transductores son activados cuando hay cambios neurales e inflamatorios en el entorno. Y el neuropático provocado por la transmisión misma de los mediadores químicos dando una sensación punzante, quemante o eléctrica diferente a los estímulos descritos anteriormente.

Percepción del dolor: es desencadenada por un estímulo nociceptivo (lesión o enfermedad) o por lesiones del sistema nervioso central.

Sufrimiento: es una respuesta negativa al dolor pero también al temor, ansiedad, estrés, pérdidas, etc. Aparece cuando la integridad física se encuentra amenazada. Frecuentemente se lo equipara de manera errónea al dolor.

Conducta frente al dolor: son las acciones que una persona hace o deja de hacer y que pueden ser atribuidas a la presencia de daño tisular (llorar, gritar, consultar al médico). Son conductas reales, observables y cuantificables por otros. Es el único componente que podemos evaluar.

Partiendo de las conductas observadas y apoyándonos en la historia clínica y el examen físico inferimos la existencia de nocicepción, dolor y sufrimiento.

Mecanismos de dolor

Nociceptivo es producido por la activación de nociceptores secundaria a daño tisular. El tratamiento está orientado a resolver la patología de base y a aliviar el síntoma.

Una salvedad es el dolor por cáncer en la que la invasión a los tejidos es persistente por lo que se comporta como un dolor agudo continuo.

Neuropático: puede ser originado por la injuria pero es perpetuado por otros factores. No hay curación. La injuria puede exceder la capacidad de cicatrización ya sea por pérdida de la región (amputación), lesiones extensas con pérdida de sustancia y cicatrización dificultosa o lesión del sistema nervioso (sección medular, neuritis)

Puede haber dolor mixto con la presencia de ambos componentes antes mencionados

El tratamiento provee alivio transitorio (no resuelve la patología de base). La terapia psicológica puede disminuir el impacto del dolor sobre la vida cotidiana.

Causas:

1. Por la enfermedad neoplásica subyacente: en partes blandas (metástasis dérmicas), visceral (obstrucción intestinal tumoral), óseo (metástasis o tumor primario), neuropático (infiltración de nervio).
2. Debido a la terapéutica: ej.: mucositis post-quimioterapia, neuritis actínica,
3. Por la debilidad asociada al cáncer: ej.: dolor por constipación, espasmo muscular,
4. Por patología concurrente: ej.: osteoartritis, espondilosis.

El Concepto de Dolor Total: implica las diferentes dimensiones que modifican la percepción y manifestación del dolor, integrado en el concepto de “sufrimiento”. Cuando se identifica la presencia de dolor en enfermo con cáncer, existen dos riesgos: suponer que el mismo responde sólo a una naturaleza biológica, modificable por fármacos o ignorar la base somática del dolor y presuponer que se trata sólo de una expresión emocional o existencial, siendo en realidad el dolor una suma de componentes físicos, psicológicos, sociales y espirituales, de ahí su componente emocional que lo hace siempre subjetivo, siendo esto un desafío para su tratamiento.

Manejo terapéutico:

1. Tratamiento de la causa.
2. Medidas no farmacológicas: físicas, kinesiológicas, psicológicas, etc.
3. Tratamiento farmacológico del dolor: es la piedra angular del alivio del síntoma

Protocolo Terapéutico Farmacológico:

Considerar:

1. Tipo del dolor según mecanismos
2. Intensidad del dolor
3. Tratamiento analgésico previo
4. Criterio de “analgésia de amplio espectro”
5. Principios para el uso de analgésicos

De acuerdo con la fisiopatología del dolor (receptores estimulados, vías aferentes) se describen dos tipos fundamentales: dolor nociceptivo y dolor neuropático. En los pacientes con dolor neoplásico es frecuente la existencia de dolor mixto, por compresión del SNP o SNC provocada por el tumor primario o las metástasis.

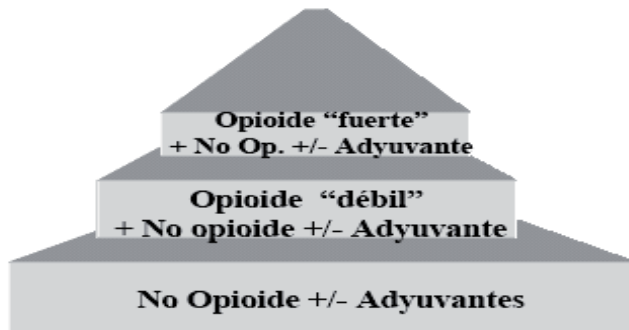
Tabla 1. Tipos y mecanismos del dolor

Relación de Respuesta analgésica vs. Mecanismo del dolor				
	Nociceptivo		Neuropático	
	Somático	Visceral	Compresión nerviosa	Destrucción Nerviosa
Patron	Localizado	Difuso	Irradiado	
AINES	+++	++	+	+/-
Opiáceos	++	+++	+	+/-
Corticoides	-	+/-	++	+/-
Adyuvantes	-	+	++	+++

Tratamiento farmacológico:

La Organización Mundial de la Salud propone una escalera para el tratamiento farmacológico adecuado:

1. No opioide con o sin adyuvante.
2. Opiode “débil” más no opioide con o sin adyuvante.
3. Opiode “fuerte” más no opioide con o sin adyuvante.



Método de la escalera analgésica de O.M.S

Tratamiento farmacológico analgésico:

El equipo de Cuidados Paliativos debe analizar la respuesta a los fármacos que recibe el paciente previo a la consulta actual. Debe optimizar posología (dosis, intervalo/dosis), agregar fármacos necesarios (ej.: adyuvantes) o modificar los fármacos prescritos.

- a) analgésicos no opioides (paracetamol, antiinflamatorios no esteroides (AINES))
- b) analgésicos opioides (débiles y fuertes, según vademécum)

c) adyuvantes (ej.: antidepresivos, anticonvulsivantes, corticosteroides; laxantes, antieméticos, psicoestimulantes)

Los *fármacos adyuvantes* cumplen dos objetivos: o bien se indican para favorecer el alivio de determinados dolores que responden parcialmente a los analgésicos (ejemplo: carbamacepina en dolor neuropático) o bien se prescriben para controlar efectos adversos de los analgésicos, favoreciendo que los mismos pueden ser administrados con menor riesgo y toxicidad. (Ej.: indicación de laxante para prevenir o controlar la constipación inducida por opioides).

Cuando se decida sustituir un opioide por otro (“rotación de opioides”), por considerar a un dolor como “resistente” a un determinado opioide, hay que tener en cuenta las recomendaciones internacionales sobre dosis a utilizar, especialmente si el opioide que se indica es metadona.

Una de las formas más comunes para tratar pacientes con enfermedades crónicas, en las que se presenta el dolor como un integrante infaltable al momento del control de síntomas, es el uso de opiáceos en forma de solución oral, preparado magistral que puede prepararse en la oficina de farmacia o en el laboratorio farmacéutico del hospital.

Como este no es el único motivo, existe un interés sanitario por la formulación magistral, que deriva sobre todo de los siguientes supuestos de preparación:

1. Formas farmacéuticas distintas a las comercializadas, para facilitar su administración a determinados pacientes

2. Formulaciones con excipientes que mejoran la eficacia y/o tolerancia respecto a la especialidad farmacéutica.

3. Formulaciones con fármacos que ya no se encuentran en el mercado farmacéutico

4. Formas farmacéuticas con dosis o concentraciones que no existen en el mercado.

De allí surgen algunas formulaciones para el tratamiento de mucositis como es la solución de clorhexidina, o el gel para mucositis para la cavidad oral, incluso las cremas para las erosiones rectales o rectitis.

Todas estas son conocidas como *Formulaciones Huérfanas*, que deben prepararse en el laboratorio de farmacia del hospital o en la oficina de farmacia (ver 1027. *Buenas Prácticas de Preparación de Medicamentos Magistrales*) tarea de gran responsabilidad, donde la calidad del producto terminado debe ser adecuada para la dosificación por parte del paciente y deberá asegurarse la estabilidad de la misma por un tiempo prudencial, como asimismo asegurar que la cantidad de principio activo por unidad de volumen no varíe en el tiempo ya que esto impedirá un buen control del síntoma por parte de los pacientes, y de los médicos en cuanto a cual será la dosis que realmente alivia el dolor.

FORMULACIONES

CLORHIDRATO DE MORFINA SOLUCIÓN ORAL (GOTAS)

Morfina, Clorhidrato de,
trihidrato.....c.s
Metilparabeno.....0,18 g
Propilparabeno.....0,02 g
Propilenglicol.....10,0 ml
EDTA disódico dihidrato.....0,01 g
Ácido cítrico anhidro.....0,32 g
Citrato de sodio dihidrato.....0,22 g
Agua Destilada c.s.p.....100,0 ml

Las dosis de morfina se ajustarán a las necesidades del paciente, por lo tanto no se establecen dosis máximas diarias.

Si el farmacéutico lo considera necesario, podrá agregar algunas gotas de saborizante en la solución antes de dispensar para mejorar el sabor, en cuyo caso el período de vencimiento no será superior al mes.]

Preparación:

Solución A - Disolver el metilparabeno y el propilparabeno en 10,0 ml de propilenglicol a temperatura ambiente, calentando suavemente para facilitar su disolución si fuera necesario.

Solución B - Disolver el ácido cítrico anhidro, el citrato de sodio y el EDTA disódico en 80 ml de agua destilada previamente hervida y enfriada.

Agregar la *Solución A* sobre la *Solución B* con agitación constante. El pH de la solución debe ser entre 3,4 y 3,8, si fuera necesario ajustar con hidróxido de sodio 0,1 N o ácido clorhídrico 0,1 N, según corresponda.

Agregar el clorhidrato de morfina a la solución de excipientes, calentando suavemente para facilitar su disolución si fuera necesario.

Controlar el pH final, si fuera necesario ajustar con hidróxido de sodio 0,1 N o ácido clorhídrico 0,1 N, filtrar y lavar el filtro con agua destilada hasta completar 100,0 ml.

Conservación - En envases inactivos de cierre perfecto, a temperatura ambiente.

Caracteres generales - Líquido límpido, libre de elementos extraños.

Determinación de pH - Entre 3,0 y 4,5

CLORHIDRATO DE MORFINA SOLUCIÓN ORAL (JARABE)

Morfina, Clorhidrato de,
trihidrato.....c.s
Metilparabeno.....0,08 g
Propilparabeno.....0,02 g
Sorbitol 70%.....25,0 ml
Agua Destilada c.s.p.....100,0 ml

Preparación - Disolver el metilparabeno y el propilparabeno en 40 ml de agua destilada calentada aproximadamente a 90 °C. Enfriar la solución, agregar el clorhidrato de morfina y agitar hasta disolución. Agregar el sorbitol, filtrar y lavar el filtro con agua destilada hasta completar 100,0 ml.

[NOTA: Podrá emplearse cantidad suficiente de Clorhidrato de Morfina para preparar soluciones de concentración deseada, las cuales no deben ser mayores a 4 %].

CLORHIDRATO DE METADONA 1 % SOLUCIÓN ORAL (JARABE)

Metadona, Clorhidrato de1,0 g
Benzoato de Sodio.....0,10 g
Sacarina Sódica.....0,20 g
Sorbitol 70%.....45 ml
Saborizante.....0,10 g

Agua Destilada c.s.p.....100,0 ml

Preparación - Disolver el benzoato de sodio en 40 ml de agua destilada previamente calentada aproximadamente a 90 °C. Enfriar, agregar la sacarina sódica y disolver. Agregar la metadona y agitar hasta disolución. Agregar el saborizante sobre el sorbitol, y éste sobre la solución de metadona. Filtrar y lavar el filtro con agua destilada hasta completar 100,0 ml.

Conservación - En envases inactínicos de cierre perfecto, a temperatura ambiente.

Caracteres generales - Líquido límpido, libre de elementos extraños.

CLORHIDRATO DE CODEÍNA DIHIDRATO, 0,3 % SOLUCIÓN ORAL (JARABE)

Codeína, Clorhidrato de,
dihidrato.....0,30 g
Metilparabeno.....0,08 g
Propilparabeno.....0,02 g
Sorbitol 70%.....25,0 ml
Agua Destilada c.s.p.....100,0 ml

Preparación - Disolver el metilparabeno y el propilparabeno en 40 ml de agua destilada calentada aproximadamente a 90 °C. Enfriar, agregar el clorhidrato de codeína y agitar hasta disolución. Agregar el sorbitol, filtrar y lavar el filtro con agua destilada hasta completar 100,0 ml.

Conservación - En envases inactínicos de cierre perfecto, en un sitio frío.

Caracteres generales - Líquido límpido, libre de elementos extraños.

CLORHIDRATO DE CLORPROMAZINA Y ACETATO DE HIDROCORTISONA CREMA

Clorhidrato de Clorpromazina.....0,20 g
Acetato de Hidrocortisona.....0,25 g
Cera autoemulsionante aniónica.....10 g
Vaselina Líquida.....4,0 ml
Metilparabeno.....0,08 g
Propilparabeno.....0,02 g
Propilenglicol.....12,0 ml
Agua Destilada75,0 ml

Preparación

Base hidrosoluble - Disolver el metilparabeno y el propilparabeno en 75 ml de agua destilada calentada aproximadamente a 90 °C. Agregar

6,0 ml de propilenglicol y mezclar. Fundir la cera y agregar la vaselina líquida agitando hasta homogeneizar. Calentar las fases oleosa y acuosa aproximadamente a 70 °C, agregar la fase oleosa sobre la acuosa agitando en forma continua hasta que la emulsión se enfríe.

Crema - Transferir el acetato de hidrocortisona y la clorpromazina a un mortero y agregar lentamente 6,0 ml de propilenglicol, triturar hasta formar una mezcla homogénea. Agregar la *Base hidrosoluble* en porciones, agitando suavemente hasta homogeneizar. Llevar a peso final con la *Base hidrosoluble*.

GLUCONATO DE CLORHEXIDINA 0,12 % SOLUCIÓN (COLUTORIO)

Clorhexidina Gluconato, Solución 20%.....0,60 ml
Glicerina.....5,0 ml
Esencia de menta.....0,02 g
Agua Destilada c.s.p.....100,0 ml

Preparación - Disolver el mentol en la glicerina. Agregar esta solución, en porciones sucesivas y agitando hasta homogeneizar, en un recipiente apropiado que contiene la solución de gluconato de clorhexidina 20 % y 40 ml de agua. Completar a 100,0 ml con agua destilada y filtrar.

Conservación - En envases inactínicos de cierre perfecto, a temperatura ambiente controlada.

Rotulado - No debe ingerirse, descartar luego de enjuagarse.

SIMETICONA SUSPENSIÓN ORAL (JARABE)

Simeticona líquida15,0 ml
Hidróxido de Aluminio.....1,5 g
Carboximetilcelulosa sódica.....0,80 g
Polisorbato 20.....0,1 ml
Glicerina.....5,0 ml
Sorbitol 70%20,0 ml
Metilparabeno.....0,08 g
Propilparabeno.....0,02 g
Sacarina Sódica.....0,20 g
Agua Destilada c.s.p.....100,0 ml

Preparación - Disolver el metilparabeno y el propilparabeno en 60 ml de agua destilada calentada aproximadamente a 90 °C. Agregar la sacarina y agitar hasta disolución. Agregar el polisorbato 20 y agitar hasta homogeneizar. Suspender el hidróxido de aluminio, agitando hasta obtener una suspensión uniforme. Colocar la carboximetilcelulosa en un mortero y agregar la

glicerina hasta formar un gel homogéneo. Agregar el sorbitol al gel de carboximetilcelulosa agitando hasta homogeneizar. Agregar al gel, en etapas sucesivas y agitando hasta homogeneizar, la suspensión preparada inicialmente y posteriormente la simeticona. Llevar a 100,0 ml con agua destilada y agitar hasta lograr una preparación homogénea.

GEL PARA MUCOSITIS (TÓPICO)

Vitamina A, Palmitato de (1.000.000 UI/ml).....	0,125 ml
Nistatina.....	0,50 g
Vitamina E.....	10 g
Lidocaína, Clorhidrato de	20 g
Hidrocortisona.....	10 g
Sacarina Sódica.....	0,50 g
Metilparabeno.....	0,08 g
Propilparabeno.....	0,02 g
Carbómero	2,5 g
Polisorbato 20.....	0,20 g
Esencia de Limón.....	0,1 ml
Sorbitol 70 %.....	20 ml
Trietanolamina.....	2 ml
Agua Destilada c.s.p.....	100,0 ml

Preparación - Disolver el metilparabeno y el propilparabeno en 40 ml de agua destilada calentada aproximadamente a 90 °C. Agregar la sacarina sódica y agitar hasta disolución. Agregar el clorhidrato de lidocaína y agitar hasta disolución. Dejar enfriar. Agregar el carbómero, dejar humectar el tiempo necesario para que gelifique y agitar hasta obtener una suspensión uniforme.

Tamizar la nistatina, transferir a un mortero con la hidrocortisona y triturar con la mezcla de vitamina A, vitamina E y polisorbato 20 agregada a 20 ml de agua destilada. Homogeneizar. Agregar a la suspensión preparada inicialmente y agitar hasta homogeneizar. Agregar una solución preparada a partir de esencia de limón en sorbitol previamente homogeneizada y completar a 100,0 ml con agua destilada. Agregar la trietanolamina y agitar hasta que se forme el gel.

CLORHIDRATO DE AMITRIPTILINA SOLUCIÓN ORAL (GOTAS)

Amitriptilina, Clorhidrato de.....	c.s
Metilparabeno.....	0,18 g
Propilparabeno.....	0,02 g
Propilenglicol.....	0,86 g
Agua Destilada c.s.p.....	100,0 ml

[NOTA: No contiene correctores de sabor ya que ha sido diseñada para ser administrada en gotas con jugos o bebidas artificiales.]

Preparación - Disolver el metilparabeno, el propilparabeno y el propilenglicol en 40 ml de agua destilada calentada aproximadamente a 90 °C. Enfriar, agregar el clorhidrato de amitriptilina y agitar hasta disolución. Controlar el pH final, filtrar y lavar el filtro con agua destilada hasta completar 100,0 ml.

[NOTA: Podrá emplearse cantidad suficiente de Clorhidrato de Amitriptilina para preparar soluciones de concentración deseada, las cuales no deben ser mayores a 6 %].

Caracteres generales - Líquido límpido, incoloro o ligeramente amarillento, libre de elementos extraños.

Determinación de pH - Entre 4,0 y 6,0.

Conservación - En envases de cierre perfecto, a temperatura ambiente.

1035. EQUIVALENCIA ENTRE MEDICAMENTOS

La seguridad, eficacia y calidad de los productos multifuente se sustentan fundamentalmente sobre dos pilares: las Buenas Prácticas de Manufactura y los estudios de equivalencia *in vivo* y/o *in Vitro*.

Los estudios de equivalencia permiten caracterizar el comportamiento de un producto multifuente con respecto a uno de referencia de manera de obtener una predicción confiable de sus efectos y garantizar la equivalencia terapéutica.

Los estudios de equivalencia *in vivo* involucran estudios farmacocinéticos, farmacodinámicos o ensayos clínicos comparativos, mientras que los estudios de equivalencia *in vitro* se llevan a cabo en función de la forma farmacéutica, por ejemplo, mediante la comparación de los perfiles de disolución entre el producto multifuente y el producto de referencia, para formas farmacéuticas sólidas orales.

Para otros productos, por ejemplo las formulaciones parenterales de compuestos altamente solubles en agua, la seguridad y eficacia es adecuadamente garantizada por la implementación de las Buenas Prácticas de Manufactura, por el cumplimiento de los estándares de calidad y por las especificaciones de Farmacopea.

Para los productos de origen biológico, tales como vacunas, suero animal, productos derivados de sangre y plasma humano y biotecnológicos, se plantean otras consideraciones que no están incluidas en este capítulo.

Por último, resulta de fundamental importancia considerar que los productos de referencia empleados en los estudios comparativos (*in vivo* e *in vitro*) sean válidos y confiables, sustentando dichas cualidades con el aporte de datos que garanticen la calidad, seguridad y eficacia del producto seleccionado.

DEFINICIONES

Alto riesgo sanitario

Es la probabilidad de aparición de complicaciones amenazantes de la enfermedad para la vida o para la integridad psicofísica de la persona y/o de reacciones adversas graves (muerte, hospitalización del paciente, prolongación de la hospitalización, discapacidad significativa o persistente, incapacidad o amenaza de muerte), cuando la concentración sanguínea del principio activo no se encuentra dentro del rango terapéutico.

Biodisponibilidad

Puede ser definida como la velocidad y cantidad con la cual el principio activo es absorbido desde la forma farmacéutica y se encuentra disponible en forma inalterada en la circulación sistémica.

Alternativas farmacéuticas

Dos productos farmacéuticos son alternativas farmacéuticas si contienen la misma cantidad molar de principio activo, pero difieren en la forma farmacéutica (por ejemplo comprimidos, cápsulas) o en la forma química (por ejemplo sal, éster). Las alternativas farmacéuticas proveen la misma cantidad de porción activa por la misma vía de administración, pero no son equivalentes farmacéuticos. Ellos pueden o no ser equivalentes terapéuticos.

Equivalentes farmacéuticos

Dos productos farmacéuticos son equivalentes farmacéuticos si contienen la misma cantidad de principio activo en la misma forma farmacéutica, están destinados a ser administrados por la misma vía y cumplen con los requisitos establecidos en las farmacopeas en cuanto a identidad, potencia, calidad y pureza y, si es aplicable, uniformidad de contenido y tiempo de desintegración y/o disolución. Sin embargo, la equivalencia farmacéutica no necesariamente implica equivalencia terapéutica ya que diferencias en los excipientes, en el proceso de elaboración, u otras pueden determinar disparidades en el comportamiento de los productos.

Productos bioequivalentes

Dos productos farmacéuticos son bioequivalentes si son equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas y sus biodisponibilidades (velocidad y magnitud de absorción), cuando se administran en la misma dosis molar, bajo condiciones experimentales similares, se encuentran dentro de límites predefinidos aceptables. Dichos límites se establecen para asegurar comportamientos comparables *in vivo* en términos de seguridad y eficacia.

Equivalentes terapéuticos

Dos productos son terapéuticamente equivalentes si ellos son equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas y después de la administración en la misma dosis molar, sus efectos, con respecto a eficacia y seguridad, serán esencialmente los mismos cuando sean administrados a pacientes por la misma vía de administración, bajo las condiciones especificadas en el prospecto.

Principios activos de estrecho rango terapéutico

Son aquellos que presentan las siguientes características:

- La relación entre la dosis letal media DL_{50} y la dosis efectiva media DE_{50} es menor de 2.
- La relación entre la mínima concentración tóxica y la mínima concentración efectiva es menor de 2.

c) Requieren una cuidadosa dosificación y monitoreo del paciente

Estudios de equivalencia

Son estudios que permiten inferir la equivalencia terapéutica entre el producto multifuente y el producto de referencia, empleando metodología *in vivo* o *in vitro*.

Producto innovador

Es aquél que fue autorizado por primera vez en su país de origen, sobre la base de documentación de calidad, seguridad y eficacia.

Producto de referencia

Es el producto innovador para el cual la seguridad, eficacia y calidad han sido establecidas. Cuando el producto innovador no se encuentre disponible localmente, o bien se encuentre disponible pero no haya demostrado su equivalencia terapéutica con el producto innovador registrado en el país de origen, el líder del mercado puede ser utilizado como producto de referencia cuando su eficacia, seguridad y calidad hayan sido establecidas y documentadas.

La autoridad sanitaria nacional determinará cual es el producto de referencia para cada caso.

Productos multifuente

Productos farmacéuticos de fuentes múltiples (diferentes productores) son equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas que pueden o no haber demostrado equivalencia terapéutica. Los productos farmacéuticos de fuentes múltiples, que hayan demostrado equivalencia *in vivo* o *in Vitro* según corresponda, se consideran terapéuticamente equivalentes al producto de referencia.

Sistema de clasificación biofarmacéutica (SCB)

Es un marco científico para clasificar principios activos sobre la base de su solubilidad acuosa y su permeabilidad intestinal. Cuando se cumplen determinados criterios de solubilidad, permeabilidad y velocidad de disolución del medicamento el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica, (aplicable sólo a la forma farmacéutica sólida oral de liberación inmediata), puede ser usado como una herramienta para justificar la demostración de equivalencia mediante estudios *in vitro* (bioexenciones).

Los estudios de equivalencia *in Vitro* son estudios de disolución para obtener la similaridad de los perfiles de disolución entre el producto multifuente y el producto de referencia en diferentes medios.

1050. FORMAS FARMACEUTICAS

En este capítulo se establecen las definiciones de las formas farmacéuticas y los principios generales para la elaboración de algunas de ellas.

Forma Farmacéutica: Es el producto proveniente de la transformación de un principio activo o de una asociación de los mismos mediante procedimientos fármacotécnicos, a fin de conferirles características físicas y morfológicas particulares para su adecuada dosificación y conservación, y que faciliten su administración y acción farmacológica.

AEROSOLES

Los aerosoles farmacéuticos son soluciones o dispersiones conteniendo principios activos que se envasan bajo presión y que se liberan con la activación de una válvula apropiada. Están destinados a la aplicación sobre la piel y la aplicación local en las vías aéreas superiores (aerosoles nasales), la cavidad oral (aerosoles bucales y sublinguales) o los pulmones (aerosoles para inhalación).

El término aerosol se aplica corrientemente a los productos presurizados que liberan su contenido en forma de una fina niebla, espumas o líquidos semi-sólidos.

En los *Aerosoles para inhalación*, el tamaño de partícula debe ser controlado cuidadosamente y su diámetro medio debe ser menor de 10 μm (ver 390. *Ensayos farmacotécnicos para aerosoles*).

Los productos que emplean válvula dosificadora se conocen como aerosoles dosificadores.

Un sistema de aerosol consta de: envase, propelente, concentrado que contiene el principio activo o principios activos, válvula y disparador. La naturaleza de estos componentes determina características tales como la distribución de tamaños de partícula, uniformidad de la dosis (para aquellos con válvulas dosificadoras), velocidad de descarga, densidad de la espuma o viscosidad del líquido.

Tipos de aerosoles - En general, los aerosoles están constituidos por sistemas de dos fases (gas y líquido) o tres fases (gas, líquido y sólido o líquido).

Los aerosoles de dos fases contienen una solución del o los principios activos en el propelente licuado que puede ir acompañado por cosolventes como alcohol, propilenglicol y polietilenglicoles, en equilibrio con el propelente vaporizado, mientras que los sistemas de tres fases contienen una suspensión o emulsión del los principios activos.

En las suspensiones el o los principios activos pueden dispersarse en el propelente con la ayuda de

excipientes apropiados, como agentes humectantes y/o soportes sólidos como talco o sílice coloidal.

Una espuma en aerosol es una emulsión que contiene uno o varios principios activos, agentes tensioactivos, líquidos acuosos o no acuosos y propelentes. Si el propelente está en la fase interna (es decir, una emulsión del tipo aceite en agua) se descarga una espuma estable y si el propelente está en la fase externa (es decir, una emulsión del tipo agua en aceite) se obtiene un líquido pulverizable o una espuma que pierde sus características rápidamente después de la descarga.

Propelentes - Su función principal es proporcionar la presión necesaria dentro del sistema para expulsar el contenido del envase, mientras que la fracción licuada es uno de los componentes de la fase líquida. Los propelentes empleados incluyen diversos hidrocarburos, especialmente derivados del metano, etano y propano e hidrocarburos de bajo peso molecular, como butanos y pentanos y gases comprimidos como dióxido de carbono, nitrógeno y óxido nitroso. Los mismos deben ser autorizados por la Autoridad Sanitaria. Con frecuencia se emplean mezclas de propelentes para obtener las características farmacotécnicas del aerosol.

Válvulas - Regulan el flujo del contenido que se libera. En la mayoría de los aerosoles se emplean válvulas que operan en forma continua. Sin embargo, los aerosoles para inhalación oral o nasal a menudo emplean válvulas dosificadoras, las que permiten liberar una dosis predeterminada con cada activación, la que debe estar dentro de las tolerancias especificadas en <390>. *Ensayos farmacotécnicos para aerosoles*.

Disparador - Adaptador adjuntado al vástago de la válvula que cuando se oprime o se mueve abre la válvula y permite dirigir el aerosol al área deseada.

Envases - Se emplean envases de vidrio, plástico o metal, o una combinación de estos materiales. Los envases de vidrio deben proporcionar seguridad y resistencia a la presión y los golpes. Se pueden emplear plásticos para recubrir los envases de vidrio y obtener mayor seguridad o en el caso envases de metálicos para mejorar la resistencia a la corrosión y la estabilidad de la formulación.

Elaboración - Los aerosoles son elaborados por dos métodos generales.

En el método de llenado en frío, el concentrado (enfriado a una temperatura por debajo de 0 °C) y el propelente refrigerado se introducen en envases abiertos (enfriados). La válvula y el disparador son luego engarzados sobre el envase para formar un sello de cierre perfecto. Durante el intervalo entre el agregado del propelente y el sellado del envase, el propelente se volatiliza lo suficiente como para desplazar el aire del envase.

En el método de llenado a presión, el concentrado se introduce en el envase, éste se cierra y el propelente se introduce bajo presión a través del orificio de la válvula. En este caso, deben tomarse medidas para evacuar el aire, aplicando vacío o desplazándolo con una cantidad apropiada de vapor del propelente.

Los controles durante el proceso de elaboración incluyen: control de la formulación, peso de llenado del propelente, control de las presiones y ensayo de pérdida en el aerosol terminado. Los aerosoles deben cumplir con las especificaciones indicadas en <390>. *Ensayos farmacotécnicos para aerosoles*.

Sustancias extraíbles - La composición y la calidad de los materiales empleados en la elaboración de los componentes de las válvulas (como por ej. vástago, juntas, etc.) deben seleccionarse con cuidado debido a que en la formulación de aerosoles se emplean solventes orgánicos como propelentes o vehículos que pueden extraer materiales de los componentes elastoméricos y plásticos a la formulación. Las sustancias extraíbles, entre las cuales se pueden incluir hidrocarburos aromáticos, nitrosaminas, aceleradores de vulcanización, antioxidantes, plastificantes, monómeros, etc., deben identificarse y minimizarse en lo posible.

CAPSULAS

Las cápsulas son formas farmacéuticas sólidas que contienen el principio activo solo o acompañado por excipientes dentro de una cubierta soluble rígida o blanda. Generalmente la gelatina es el componente principal de las paredes de las cápsulas. Los tamaños de las cápsulas se designan mediante escala numérica desde el N° 5, el más pequeño, al N° 000, que es el más grande:

Las cápsulas rígidas pueden contener colorantes como, óxidos de hierro, agentes opacantes como dióxido de titanio, dispersantes, agentes de endurecimiento como la sacarosa y conservantes. Contienen normalmente entre 10 y 15% de agua.

Las cápsulas rígidas se llenan con polvos o gránulos. Generalmente las formulaciones contienen excipientes, lubricantes y deslizantes para facilitar el llenado. También pueden agregarse desintegrantes, para facilitar la disgregación y dispersión

en el tracto digestivo. Cuando el principio activo es hidrofóbico pueden agregarse agentes humectantes.

La formulación, el método de llenado y el grado de compactación influyen en la velocidad de liberación de los principios activos.

Las cápsulas blandas, preparadas a partir de gelatina u otro material apropiado requieren métodos de producción en gran escala. Las paredes de las cápsulas blandas de gelatina son más gruesas que en las cápsulas rígidas y pueden ser plastificadas mediante el agregado de un polialcohol como sorbitol o glicerina. La relación entre plastificante anhidro y gelatina seca determina la plasticidad y dureza y permite adecuarlas a las condiciones ambientales o a la naturaleza del contenido. La composición de las cápsulas blandas puede incluir colorantes aprobados, agentes opacantes como dióxido de titanio, saborizantes y conservantes. Las cápsulas blandas contienen normalmente entre 6 y 13% de agua. En la mayoría de los casos, las cápsulas blandas se llenan con líquidos, aunque pueden llenarse con sólidos particulados empleando equipos apropiados. Los principios activos se pueden disolver o se suspenden en vehículos oleosos, como por ej., aceite vegetal, sin embargo, los vehículos no acuosos, miscibles con agua, como por ej., polietilenglicol de bajo peso molecular son más comúnmente empleados debido a que presentan menores problemas de biodisponibilidad.

Los sellos, son un tipo de cápsulas de almidón de poco uso en la actualidad. Su empleo está limitado a la preparación de ciertas fórmulas magistrales con polvos muy voluminosos. Sus tamaños se designan mediante escala numérica desde el N° 00, el más pequeño, al N° 2 que es el más grande.

Cápsulas con cubierta entérica - Las cápsulas o los gránulos encapsulados pueden recubrirse para resistir la liberación del principio activo en el fluido gástrico cuando es importante evitar problemas potenciales de inactivación del principio activo o la irritación de la mucosa gástrica. El término liberación retardada se emplea en las monografías para las cápsulas y los gránulos con cubierta entérica que están destinadas a retardar la liberación del principio activo hasta que la cápsula y gránulos encapsulados haya pasado a través del estómago.

Cápsulas de liberación prolongada - Se formulan de tal manera que la liberación del principio activo se produzca durante un período de tiempo prolongado después de su administración. Las expresiones como *acción prolongada*, *acción extendida* y *liberación sostenida* también se han empleado para describir tales formas farmacéuticas. Sin embargo, para los fines farmacopeicos y requisitos para la liberación de principios activos (ver 530.

Liberación de principios activos) se emplea el término *liberación prolongada*.

COMPRIMIDOS

Los comprimidos son formas farmacéuticas sólidas que contienen uno o más principios activos generalmente acompañados por excipientes apropiados y se administran por diferentes vías. Se preparan mediante la aplicación de altas presiones sobre polvos o granulados, empleando equipos mecánicos provistos de matrices y punzones apropiados.

En la formulación de comprimidos generalmente se emplean como excipientes diluyentes, aglutinantes, desintegrantes y lubricantes. También pueden estar presentes colorantes y saborizantes.

Elaboración - Se emplean tres métodos generales de elaboración: granulación húmeda, granulación seca y compresión directa.

Los comprimidos deben cumplir con las especificaciones descritas en <740>. *Uniformidad de unidades de dosificación*, <310>. *Ensayo de disgregación* y <320>. *Ensayo de disolución*.

Los comprimidos pueden recubrirse para proteger sus componentes de los efectos del aire, la humedad o la luz, enmascarar sabores u olores desagradables, mejorar la apariencia y controlar el sitio de liberación del principio activo en el tracto gastrointestinal.

Comprimidos con cubiertas simples - En algunos casos, los comprimidos se recubren con azúcar (grageas) que se aplica por medio de suspensiones acuosas. Los comprimidos recubiertos luego son pulidos mediante la aplicación de soluciones diluidas de cera en solventes como cloroformo o mezclas de polvos. Los revestimientos que constan de sustancias como goma laca o acetofalato de celulosa a menudo se aplican con solventes no acuosos antes de la aplicación de la cubierta azucarada.

Comprimidos, con cubierta entérica - Cuando el principio activo puede destruirse o inactivarse por el jugo gástrico o cuando puede irritar la mucosa gástrica, se indica el empleo de los revestimientos entéricos. Estos revestimientos están destinados a retardar la liberación del principio activo hasta que el comprimido haya pasado a través del estómago. En esta Farmacopea se emplea el término *liberación retardada* y las monografías correspondientes incluyen ensayos y especificaciones para la liberación del principio activo (ver 530. *Liberación de principios activos*).

Comprimidos de liberación prolongada - Se formulan de tal manera que la liberación del princi-

pio activo se produzca durante un período prolongado de tiempo después de la administración. Las expresiones como *liberación extendida*, *acción prolongada*, *acción repetida* y *liberación sostenida* también se emplean para describir tales formas farmacéuticas. Sin embargo, el término *liberación prolongada* se emplea para los fines farmacopeicos y los requisitos para la liberación de principios activos se especifican en las monografías correspondientes.

CREMAS

Son formas farmacéuticas semisólidas emulsionadas que contienen uno o varios principios activos y hasta un 80 % de agua. Este término se ha aplicado tradicionalmente a los semisólidos que poseen una consistencia relativamente fluida formulados ya sea como una emulsión agua en aceite o aceite en agua. Sin embargo, más recientemente el término ha estado restringido a los productos que consisten en emulsiones aceite en agua o dispersiones acuosas microcristalinas de ácidos grasos o alcoholes de cadena larga que son fácilmente lavables, cosmética y estéticamente más aceptables.

ELIXIRES

Ver *Soluciones*.

EMULSIONES

Son sistemas de al menos dos fases en los cuales un líquido se dispersa en otro líquido en la forma de glóbulos o gotitas pequeñas. Cuando el aceite es la fase dispersa y la fase continua es la acuosa, el sistema se designa como una emulsión aceite en agua. Por el contrario, cuando el agua o una solución acuosa es la fase dispersa y un aceite o material oleoso es la fase continua, el sistema se designa como una emulsión agua en aceite. Las emulsiones se estabilizan mediante agentes que impiden la coalescencia.

En las emulsiones aceite en agua, se agregan polímeros hidrofílicos naturales o sintéticos junto con los agentes tensioactivos. Estas sustancias se acumulan en la interfase y aumentan la viscosidad de la fase acuosa por lo cual disminuyen la velocidad de la formación de agregados.

Todas las emulsiones requieren un agente antimicrobiano porque la fase acuosa es favorable al crecimiento de los microorganismos.

EXTRACTOS

Son formas farmacéuticas líquidas, semisólidas y plásticas o sólidas y pulverulentas, obtenidas por agotamiento de drogas vegetales o animales con solventes apropiados, que luego se evaporan parcial

o totalmente, ajustando el residuo a tipos determinados para cada droga.

Por su consistencia se clasifican en *Extractos fluidos*; *Extractos firmes* o *pilulares* y *Extractos secos* o *pulverizados*.

Los extractos firmes y los secos de una misma droga, deberán contener la misma cantidad de principios activos.

La preparación de los extractos comprende dos operaciones principales: la obtención del líquido extractivo y su concentración. Ambas se practicarán según procedimientos que varían de acuerdo con las características de la droga.

Obtenido el extracto, que se realizará por percolación, maceración u otro procedimiento, se concentrará hasta la consistencia indicada en cada caso, evitando la acción prolongada del calor, así como una temperatura alta. En general deberá preferirse la destilación del disolvente con presión reducida, a temperatura inferior a 50 °C.

Todos los extractos que contengan principios activos enérgicos deberán ser valorados y ajustados a un tipo determinado para cada droga. Para ello deberán emplearse como diluentes sustancias inertes.

Si la droga contiene sustancias grasas solubles en el disolvente a emplear, es necesario adoptar algún procedimiento que permita eliminarlas, con lo cual se facilitarán las manipulaciones ulteriores y, a la vez, la conservación del extracto.

El rótulo deberá indicar: nomenclatura de la droga usada; si es un *extracto fluido, firme* o *seco*; el disolvente o disolventes empleados; si se empleó droga desecada o fresca; si se agregaron excipientes, estabilizantes o agentes antimicrobianos, cuáles y en qué proporción. Además se deberá especificar: el porcentaje de residuo seco; y el porcentaje de alcohol en el extracto final en los extractos fluidos.

GELES

Son sistemas semisólidos con un alto contenido acuoso o hidroalcohólico y baja o media viscosidad conferida por un agente gelificante. Cuando la masa del gel consta de una red de partículas discretas pequeñas, el gel se clasifica como un sistema de dos fases (como por ej., *Gel de hidróxido de aluminio*), mientras que, si el tamaño de partícula de la fase dispersa es relativamente grande, generalmente se denomina magma (como por ej., *Magma de bentonita*). Tanto geles como magmas suelen ser tixotrópicos, siendo semisólidos en reposo y tornándose líquidos al agitarlos. Deben ser agitados antes de su uso para asegurar la homogeneidad y deben rotularse a ese efecto. (Ver *Suspensiones*.)

Los geles que se visualizan como una sola fase generalmente contienen macromoléculas orgánicas

distribuidas uniformemente en todo el líquido de tal manera que no existe ningún límite evidente entre las macromoléculas dispersas y el líquido. Los geles de una sola fase pueden prepararse con macromoléculas sintéticas o con gomas naturales. Estos últimos también se llaman mucílagos.

IMPLANTES (PELLETS)

Son masas sólidas estériles pequeñas que contienen un principio activo altamente purificado (con o sin excipientes), preparados mediante compresión o moldeado. Están destinados para obtener una liberación continua del principio activo durante largos períodos de tiempo.

INYECTABLES

Son productos fluidos formulados para ser administrados a través de piel o mucosas. Estos productos se deben preparar mediante procedimientos que garanticen el cumplimiento de los requisitos establecidos por la Farmacopea para esterilidad, pirogénos, partículas extrañas, etc. y contienen, si fuera necesario, inhibidores para el crecimiento de microorganismos.

Denominación - Esta Farmacopea denominará los diferentes tipos de inyectables mediante el nombre de la sustancia oficial seguido de:

1. Solución inyectable - Preparaciones líquidas que son sistemas homogéneos.
2. Para inyección - Sólidos que al agregarles vehículos apropiados forman soluciones que cumplen con todos los requisitos generales aplicables a las soluciones inyectables.
3. Emulsión inyectable - Preparaciones líquidas que son emulsiones de fase externa acuosa u oleosa.
4. Suspensión inyectable - Preparaciones líquidas de sólidos suspendidos en medios líquidos apropiados. No deben emplearse para la administración intravenosa o intratecal.
5. Para suspensión inyectable - Sólidos que mediante el agregado de vehículos apropiados resultan en preparaciones que cumplen con todos los requisitos generales aplicables a las Suspensiones inyectables.

Los envases de las formulaciones inyectables deben llenarse con un volumen ligeramente en exceso del declarado en el rótulo (ver 210. *Determinación del contenido extraíble del envase*).

Inyectables de grandes y pequeños volúmenes - En esta Farmacopea, una formulación inyectable de gran volumen corresponde a un inyectable monodosis destinado a la administración intravenosa, envasado en recipientes que contengan un volumen mayor o igual a 100 ml (Solución para infusión). La

designación de formulación inyectable de pequeño volumen se refiere a un inyectable envasado en recipientes que contengan un volumen menor a 100 ml.

Vehículos acuosos - Los vehículos para inyectables deben satisfacer los requisitos de <340>. *Ensayo de piretógenos* o de <330>. *Ensayo de endotoxinas bacterianas*, según se especifique. El *Agua para Inyectables* se emplea generalmente como vehículo, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente. El cloruro de sodio u otro agente isotonzante pueden agregarse en cantidades suficientes para obtener una solución isotónica.

Otros vehículos - Los aceites fijos que se empleen como vehículos no acuosos para inyectables, deberán tener un índice de saponificación ente 185 y 200 (ver 480. *Grasas y aceites fijos*) y un índice de iodo entre 79 y 141 (ver 480. *Grasas y aceites fijos*).

Los mono o diglicéridos de ácidos grasos pueden emplearse como vehículos con tal que sean líquidos y permanezcan lípidos cuando se enfríen a 10 °C y tengan un *Índice de iodo* no mayor de 140 (ver 480. *Grasas y aceites fijos*).

Pueden emplearse éstos u otros vehículos no acuosos, siempre y cuando sean inocuos en la proporción y volumen que se administran y no interfieran con la eficacia terapéutica del preparado.

Sustancias auxiliares - Cuando sea necesario aumentar la estabilidad, pueden agregarse sustancias apropiadas a los preparados inyectables, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, siempre que sean inocuas en las cantidades administradas y no interfieran con la eficacia terapéutica o con los ensayos y valoraciones especificadas. No pueden agregarse sustancias colorantes sólo para dar color a la preparación final de una formulación inyectable (ver *Sustancias auxiliares* en *Consideraciones generales*).

Los inyectables de gran volumen no deben contener conservantes ni colorantes. Tampoco pueden contener estabilizantes a menos que se especifique lo contrario en la monografía correspondiente.

Debe tenerse especial cuidado en la selección y empleo de las sustancias auxiliares que se incorporan en preparados inyectables que se administren en volúmenes mayores de 5 ml y menores o iguales de 100 ml. A menos que se especifique de otro modo, deben considerarse las siguientes recomendaciones: 0,01 % para agentes que contengan mercurio y agentes tensioactivos catiónicos; 0,5 % para clorobutanol, cresol y fenol; 0,2 % para dióxido de azufre o

una cantidad equivalente de sulfito, bisulfito, metabisulfito de potasio o de sodio.

JARABES

Ver *Soluciones*.

LOCIONES

Ver *Soluciones, Suspensiones y Emulsiones*.

OVULOS

Son formas farmacéuticas sólidas o semirrígidas obtenidas por compresión o colado sobre moldes, para su aplicación en la vagina donde ejercen su acción. Son generalmente globulares u oviformes y pesan aproximadamente 5 g cada uno.

PASTAS

Son formas farmacéuticas semisólidas que contienen un alto porcentaje de sólidos y son destinadas para aplicación tópica. Puede prepararse a partir de un gel acuoso o a partir de excipientes grasos obteniéndose, en estos casos, ungüentos espesos que comúnmente no se ablandan a la temperatura corporal y en consecuencia sirven como capas protectoras sobre las áreas en las cuales se aplican.

PASTILLAS

Son preparados sólidos, destinados a disolverse o desintegrarse lentamente en la boca. Contienen uno o varios principios activos, generalmente en una base azucarada. Pueden ser preparados por moldeo o mediante compresión.

Están generalmente destinadas para el tratamiento de la irritación o las infecciones locales de la boca o la garganta pero pueden contener principios activos destinados a la absorción sistémica después de la ingestión.

PELLETS

Ver *Implantes*.

POLVOS

Son productos sólidos constituidos por una sustancia o mezcla homogénea de sustancias finamente divididos que pueden estar destinadas para uso interno (polvos orales) o externo (polvos tópicos). Debido a su mayor área específica, los polvos se dispersan y se disuelven más fácilmente que las formas farmacéuticas sólidas. Los polvos pueden estar destinados a ser reconstituidos por el farmacéutico o el paciente mediante el agregado de una cantidad específica de agua u otro vehículo al momento de dispensar o usar. Dado que estos productos reconstituidos generalmente tienen una estabilidad limitada, se requiere que se declare el período de vida útil (fecha de vencimiento) a partir de su

reconstitución y pueden requerir conservación en un refrigerador.

POMADAS

Son formas farmacéuticas para uso externo de consistencia semisólida que contienen hasta un 40 % de agua sobre una base grasa.

Cuando la pomada contiene cera en proporción de 25 %, como mínimo, se designa como cerato. Cuando la pomada contiene glicerina en proporción de 50 %, como mínimo, se designa como glicerolado.

PREPARACIONES OFTALMICAS

Los principios activos se administran en los ojos en una amplia variedad de formas farmacéuticas, algunas de las cuales requieren consideraciones especiales. Todas ellas deben ser estériles.

Soluciones oftálmicas - Son soluciones estériles, esencialmente libres de partículas extrañas, apropiadamente preparadas y envasadas para la instilación en el ojo.

Valor de isotonicidad - El líquido lagrimal es isotónico con la sangre, teniendo un valor de isotonicidad que corresponde al de una solución de cloruro de sodio al 0,9 %.

Algunas soluciones oftálmicas son necesariamente hipertónicas para mejorar la absorción o proporcionar suficiente concentración del principio activo para ejercer una acción efectiva. Dado que el volumen empleado de tales soluciones es pequeña, la dilución con el líquido lagrimal tiene lugar rápidamente y el malestar de la hipertonicidad es sólo temporal:

Regulación del pH - Frecuentemente, por razones de compatibilidad, estabilidad o eficacia, el pH de las soluciones oftálmicas es diferente al pH de las lágrimas. Las lágrimas normales tienen un pH de aproximadamente 7,4 y poseen cierta capacidad reguladora. La aplicación de una solución al ojo estimula la secreción lagrimal y la neutralización rápida de cualquier exceso de protones u hidroxilos. Es importante que las soluciones reguladoras de pH que se emplean interfieran lo menos posible con este proceso.

Conservación - Las soluciones oftálmicas pueden envasarse en envases multidosis no mayores a 15 ml cuando se destinan para el uso individual de un paciente y cuando las superficies oculares están intactas. Es obligatorio que los envases primarios para las soluciones oftálmicas estén sellados con un cierre inviolable para que la esterilidad esté asegurada al momento de emplearse por primera vez. Estas soluciones deben contener un conservante para impedir el crecimiento o destruir los microor-

ganismos que se introducen accidentalmente cuando el envase se abre durante el uso.

Cuando se destinan para uso en procedimientos quirúrgicos, las soluciones oftálmicas, aunque deben ser estériles, no deben contener conservantes, ya que pueden ser irritantes a los tejidos oculares.

Suspensiones oftálmicas - Son preparaciones líquidas estériles que contienen partículas sólidas dispersadas en un vehículo líquido destinadas para la aplicación sobre el ojo (ver *Suspensiones*). Es imperativo que tales suspensiones contengan el principio activo en forma micronizada para impedir la irritación y/o la excoiación de la córnea. Las suspensiones oftálmicas no deben presentar aglutinación o agregación.

Ungüentos oftálmicos - Se elaboran con ingredientes esterilizados bajo condiciones asépticas y cumplen con los requisitos de <370>. *Ensayos de esterilidad*.

Los ungüentos oftálmicos deben contener conservantes para impedir el crecimiento de los microorganismos que se introducen accidentalmente cuando el envase se abre durante el uso, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, o que la fórmula misma sea bacteriostática. El principio activo se agrega a la base del ungüento como una solución o como un polvo micronizado. El ungüento terminado debe estar exento de partículas grandes y debe cumplir con los requisitos de <660>. *Partículas metálicas en ungüentos oftálmicos*.

SISTEMAS DE LIBERACION

Son productos que permiten la liberación del principio con una velocidad predeterminada durante períodos de tiempo prolongados. Se han desarrollado sistemas de liberación para diferentes vías de administración, algunos de los cuales se describen a continuación.

Sistemas transdérmicos - Son formas farmacéuticas que, cuando se aplican sobre la piel sana, liberan el principio activo en la circulación sistémica a través de la piel. Los sistemas comprenden generalmente una cubierta exterior (barrera), un reservorio para el principio activo, que puede tener una membrana de control de velocidad, un adhesivo de contacto aplicado a alguna o todas las partes del sistema, la interfase sistema/piel y un envoltorio protector que se quita antes de aplicar el sistema.

La actividad de estos sistemas se define en función de la velocidad de liberación del principio activo del mismo. También puede declararse la duración total de la liberación del principio activo del sistema y su área superficial.

Los sistemas transdérmicos de liberación de principios activos funcionan mediante difusión: difunde desde el reservorio, directamente o a través de la membrana controladora de velocidad y/o el adhesivo de contacto si está presente y luego a través de la piel a la circulación general. Los sistemas de liberación modificada están diseñados para liberar el principio activo a una velocidad constante, para lograr una concentración sanguínea constante y apropiada que se mantenga hasta que el sistema sea retirado. En ese momento, la concentración sanguínea desciende a velocidad compatible con la farmacocinética del principio activo.

Sistema ocular - Está destinado para ser localizado en el fondo del saco conjuntival inferior del cual el principio activo difunde a través de una membrana a una velocidad constante.

Sistema intrauterino - Son sistemas basados en un principio similar a los descritos anteriormente pero diseñados para que la liberación del principio activo ocurra durante un período de tiempo más largo, por ej., 1 año.

Apósitos - Son materiales de distinta naturaleza que se aplican sobre piel o mucosa, sana o lesionada, con el objetivo de aislar, proteger, absorber y/o promover la curación de una lesión.

SOLUCIONES

Son preparados líquidos que contienen una o varias sustancias disueltas en un solvente o una mezcla apropiada de solventes miscibles entre sí. Ya que las moléculas en las soluciones se dispersan uniformemente, el empleo de soluciones como forma farmacéutica contempla en general la seguridad de dosificación uniforme con la administración y buena exactitud cuando se diluyen o se mezclan con otras soluciones.

Las formas farmacéuticas categorizadas como Soluciones se clasifican según la vía de administración, en *Soluciones orales* y *Soluciones tópicas* o por la naturaleza de las sustancias disueltas y los solventes, empleados, en *Tinturas*, *Aguas aromáticas*, *Alcoholados*, *Oleolados*, etc. Las soluciones destinadas para la administración parenteral son denominadas oficialmente *Soluciones inyectables*.

Soluciones orales - Las soluciones orales son preparados líquidos, destinados para la administración oral, que contienen uno o varios principios activos con o sin aromatizantes, endulzantes, o colorantes disueltos en agua o en mezclas de agua y cosolventes. Las soluciones orales pueden formularse para la administración oral directa al paciente o pueden dispensarse en una forma más concentrada que debe diluirse antes de la administración. Es

importante reconocer que la dilución con agua de las soluciones orales que contienen cosolventes como alcohol, podría conducir a la precipitación de algunos componentes. Los preparados dispensados como sólidos solubles o mezclas solubles de sólidos, con la intención de disolverlos en un solvente y administrarlos oralmente, se denominan *para solución oral*.

Las soluciones orales que contienen concentraciones altas de sacarosa u otros azúcares tradicionalmente se han denominado como *Jarabes*. Una solución de sacarosa en agua cercana al punto de saturación, se denomina *Jarabe* o *Jarabe simple*. Bajo la denominación de *Jarabe*, también se incluyen otras formas farmacéuticas líquidas preparadas en un vehículo dulce y viscoso, incluyendo suspensiones orales.

Además de la sacarosa y otros azúcares, ciertos polialcoholes como el sorbitol o la glicerina puede estar presente en las soluciones orales para inhibir la cristalización y modificar la solubilidad, el gusto, la palatabilidad y otras propiedades del vehículo. Generalmente contienen conservantes para impedir el crecimiento de bacterias, levaduras y mohos. Algunas soluciones orales sin azúcar contienen agentes endulzantes como sorbitol o edulcorantes sintéticos, así como agentes viscosantes.

Tales soluciones dulces viscosas, sin azúcares, son ocasionalmente preparadas como vehículos para la administración de los principios activos a los pacientes diabéticos.

Las Soluciones orales, que contienen alcohol como cosolvente, se han denominado tradicionalmente *Elixires*. Dado que las concentraciones altas de alcohol pueden producir un efecto farmacológico cuando son administradas oralmente, se emplean otros cosolventes, como glicerina y propilenglicol, para reducir al mínimo la cantidad de alcohol requerida.

Soluciones oftálmicas - Ver *Preparaciones oftálmicas*.

Soluciones tópicas - Son soluciones generalmente acuosas, que a menudo contienen otros solventes como alcohol y polialcoholes. Están destinadas para la aplicación tópica sobre la piel o sobre la superficie de las mucosas. El término *Loción* se aplica a soluciones, suspensiones o emulsiones aplicadas tópicamente.

Soluciones óticas - Destinadas para la instilación en el oído externo, son soluciones acuosas o soluciones que contienen glicerina u otros solventes y agentes de dispersión.

Solución nasal - Son soluciones acuosas de sustancias medicamentosas destinadas a ser introduci-

das en las fosas nasales en forma de gotas o pulverizaciones.

Solución para nebulizar - Son soluciones medicamentosas destinadas a llevar la medicación hasta las partes más profundas del tracto respiratorio. Se logra colocándola en un nebulizador donde se produce atomización del líquido en partículas finas y uniformes suspendidas en un gas (aire u oxígeno).

Tinturas - Son soluciones alcohólicas o hidroalcohólicas preparadas a partir de drogas vegetales u otro origen. Las drogas heroicas o muy activas se prepararán en general, de manera que por cada 100 g de droga se obtengan 1.000 ml de tintura. La concentración se ajustará después de la valoración. Las tinturas de drogas no heroicas o poco activas se prepararán de manera tal que por cada 200 g de droga se obtengan 1.000 ml de tintura.

A menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente, para la preparación de las tinturas oficiales se emplearán los siguientes métodos:

Procedimiento L (Lixiviación) - Mezclar extensivamente la droga molida con una cantidad suficiente de menstruo que permita una impregnación uniforme. Dejar en reposo durante 15 minutos, transferir a un percolador apropiado y empacar firmemente. Verter una cantidad suficiente de disolvente de manera que la droga, en su totalidad, quede cubierta por el mismo. Dejar macerando durante 24 horas o por el tiempo especificado en la monografía correspondiente, con el percolador tapado. Si no se indica ninguna valoración, dejar que la percolación proceda lentamente, o a la velocidad especificada en la monografía, agregando gradualmente el menstruo en cantidad suficiente para producir 1.000 ml de tintura y mezclar. Si es necesaria una valoración, recolectar los primeros 950 ml del percolado, mezclar y analizar una alícuota según se indique. Diluir el resto con tal cantidad de disolvente utilizado, hasta obtener una tintura que se ajuste a la norma y mezclar.

Procedimiento M (Maceración) - Mezclar la droga molida con 750 ml del menstruo a utilizar, en un recipiente cerrado y colocarlo a temperatura ambiente, agitando con frecuencia durante 3 días a menos que se especifique otra cosa en la monografía. Filtrar, prensar el residuo, lavar el recipiente y el residuo con pequeñas porciones del menstruo utilizado, combinando los filtrados para producir 1.000 ml de tintura y mezclar.

El rótulo deberá indicar: la nomenclatura, la proporción del material de partida en relación a la cantidad de tintura final y el contenido porcentual de etanol en v/v en la tintura final.

Infusión - Es una forma farmacéutica líquida, recientemente preparada, obtenida por la acción del agua caliente durante 20 minutos, sobre drogas vegetales poco activas, convenientemente divididas (molidas).

Transferir la droga a un recipiente apropiado de cierre perfecto, agregar agua destilada hirviendo en cantidad aproximadamente igual a la del preparado que se ha de obtener y tapar el recipiente. Luego de 20 minutos, colar o filtrar con expresión, según el caso, y lavar el residuo con cantidad suficiente de agua para completar el volumen requerido.

Si no se especifica de otro modo, las infusiones se preparan al 5 % p/v. Salvo indicación especial, todas las infusiones deben prepararse únicamente con las drogas correspondientes y no con extractos u otros productos.

Cocimiento o decocción - Es una forma farmacéutica líquida, recientemente preparada, obtenida por la acción del agua mantenida a ebullición durante 20 minutos, sobre drogas vegetales poco activas, convenientemente fragmentadas o molidas.

Colocar la droga en un recipiente adecuado, verter agua destilada en cantidad aproximadamente igual a la del preparado que se ha de obtener y tapar el recipiente imperfectamente. Calentar la mezcla hasta que el agua hierva y mantener durante 20 minutos a ebullición lenta. Enfriar, colar o filtrar con expresión, según el caso, y lavar el residuo con cantidad suficiente de agua para completar el volumen requerido.

Si no se especifica de otro modo, las decocciones se preparan al 5 % p/v. Salvo indicación especial, todos los cocimientos deben prepararse únicamente con las drogas correspondientes y no con extractos u otros productos.

SUPOSITORIOS

Son cuerpos sólidos de diversos tamaños y formas, adaptados para la introducción en el recto. Se deben ablandar o disolver a la temperatura corporal (ver 400. *Ensayos farmacotécnicos para supositorios*). Un supositorio puede actuar como un protector o paliativo local o como un vehículo de principios activos para producir una acción sistémica o local. Las bases de supositorio generalmente empleadas son manteca de cacao, gelatina glicerina, aceites vegetales hidrogenados, mezclas de polietilenglicoles de diversos pesos moleculares y ésteres de ácidos grasos del polietilenglicol.

La base de supositorio tiene una influencia marcada en la liberación del principio activo.

Supositorios de manteca de cacao - Estos supositorios pueden elaborarse incorporando el principio activo finamente dividido en la base a tempe-

ratura ambiente y luego moldear apropiadamente la masa resultante o bien fundiendo la base para permitir que la suspensión resultante solidifique por enfriamiento en los moldes. Puede agregarse una cantidad apropiada de agentes de endurecimiento para contrarrestar la tendencia a ablandarse de los productos que contienen algunos principios activos, como por ej., el hidrato de cloral.

Los supositorios para adultos se estrechan en uno o ambos extremos y pesan aproximadamente 2 g cada uno. Los supositorios preparados con otras bases varían en el peso y son en general más pesados.

Los supositorios con manteca de cacao como base requieren conservación en envases bien cerrados, a una temperatura menor de 30 °C (temperatura ambiente controlada).

Sustitutos de la manteca de cacao - Las bases para supositorios de tipo grasa pueden obtenerse a partir de una variedad de aceites vegetales, como el de coco o de palma, que son modificados mediante esterificación, hidrogenación y fraccionamiento para obtener productos de composición y temperatura de fusión variables. Estas bases permiten lograr las características deseadas como intervalos estrechos entre la temperatura de fusión y de solidificación e intervalos de fusión que se adecuen a diversas condiciones climáticas y de la formulación.

Supositorios de gelatina glicerinada - Los principios activos pueden incorporarse en bases de gelatina glicerinada mediante el agregado de las cantidades indicadas a un vehículo que consiste en glicerina, gelatina y agua (70:20:10).

Los supositorios de gelatina glicerinada requieren conservación en envases de cierre perfecto, a una temperatura menor de 35 °C.

Supositorios de polietilenglicol - Varias combinaciones de polietilenglicol con temperaturas de fusión mayor que la temperatura corporal se emplean como bases de supositorios. Dado que la liberación a partir de estas bases depende de la disolución en lugar de la fusión, existen significativamente menos problemas en la preparación y conservación que los que existen con vehículos que actúan por fusión. Sin embargo, altas concentraciones de polietilenglicoles de peso molecular mayor pueden extender el tiempo de disolución, dando lugar a problemas de retención. Los rótulos en los supositorios de polietilenglicol, deben contener instrucciones que indiquen que se deben humedecer con agua antes de usar. Aunque pueden almacenarse sin refrigeración, deben mantenerse en envases herméticamente cerrados.

Bases de supositorio con agentes tensioactivos

- Varios agentes tensioactivos no iónicos relacionados químicamente con los polietilenglicoles se emplean como vehículos de supositorios. Estos agentes tensioactivos se emplean solos o en combinación con otros vehículos para producir la consistencia y temperaturas de fusión apropiadas. Una de las ventajas principales de tales vehículos es que se dispersan con facilidad en contacto con el agua. Sin embargo, debe tenerse cuidado con el empleo de agentes tensioactivos, porque puede aumentar la velocidad de absorción del principio activo, o interactuar con moléculas del principio activo, causando una disminución en la actividad terapéutica.

SUSPENSIONES

Son preparados líquidos constituidos por partículas sólidas dispersadas en una fase líquida en la cual las partículas no son solubles. Estos productos se diseñan para administrarse por diferentes vías como *Suspensiones orales*, *Suspensiones inyectables*, *Suspensiones tópicas*; etc. Algunas suspensiones están preparadas y listas para su uso, mientras que otras se presentan como mezclas de polvos para reconstituirse antes de su uso, con el vehículo que corresponda. Tales productos se denominan *para suspensión oral*, etc. El término *Leche* a veces se emplea para las suspensiones en vehículos acuosos destinadas para la administración oral. El término *Magma*, a menudo se emplea para describir las suspensiones de sólidos inorgánicos hidrofílicos como las arcillas, que originan sistemas con un comportamiento reológico similar a los geles. El término *Loción* se emplea para categorizar muchas suspensiones y emulsiones tópicas destinadas para la aplicación sobre la piel. Algunas suspensiones son preparadas en forma estéril y se emplean como inyectables o para la administración oftálmica.

Por su misma naturaleza, los sólidos en una suspensión puede sedimentar en el fondo del envase. Tal sedimentación también puede conducir a la aglutinación y la solidificación del sedimento con la resultante dificultad para la redispersión de la suspensión por agitación. Para impedir tales problemas, se emplean una variedad de sustancias auxiliares tales como agentes tensioactivos, agentes viscosantes de diferentes tipos (polímeros hidrofílicos, arcillas), agentes floculantes, modificadores de la densidad, etc. Es importante que las suspensiones siempre se agiten antes de ser empleadas para asegurar la distribución uniforme del sólido en el vehículo y de ese modo asegurar la dosificación uniforme y apropiada. Las suspensiones requieren conservación en envases de cierre perfecto.

Suspensiones orales - Son preparados líquidos que contienen partículas sólidas dispersadas en un vehículo líquido, con agentes saborizantes apropiados, destinados para la administración oral. Algunas suspensiones rotuladas como *Leches* o *Magmas* pertenecen a esta categoría.

Suspensiones tópicas - Son preparaciones líquidas que contienen partículas sólidas dispersas en un vehículo líquido, destinadas para la aplicación sobre la piel. Algunas suspensiones rotuladas como *Lociones* pertenecen a esta categoría.

Suspensiones óticas - Son preparaciones líquidas que contienen partículas micronizadas destinadas para la instilación en el oído externo.

Suspensiones oftálmicas - Ver *Preparaciones oftálmicas*.

Suspensiones inyectables - Ver *Inyectables*.

Suspensión rectal - Son sistemas bifásicos de partículas sólidas mayor a 0,1 μm dispersas en un vehículo líquido de aplicación rectal. Enemas suspensión.

TISANAS

Consiste en una o más drogas vegetales enteras, fragmentadas o molidas, destinadas a preparaciones acuosas por medio de decocción, infusión o maceración. La preparación se realiza inmediatamente antes de sus uso.

Las tisanas generalmente se suministran a granel o en bolsitas. Conservar en envases inactivos, bien cerrados.

Las tisanas deberán cumplir con los requerimientos indicados en <630> *Métodos de Farma-*

cognosia. Las tisanas suministradas en bolsitas deberán satisfacer el siguiente ensayo:

Uniformidad de masa: determinar el peso de veinte unidades elegidas al azar, según se indica a continuación. Pesar una bolsita llena de tisana vegetal, abrirla cuidadosamente, vaciarla completamente utilizando pincel. Pesar la bolsita vacía y calcular el contenido por diferencia de peso. A menos que se indique lo contrario, no más de dos de las veinte masas individuales de los contenidos se deben desviar de la masa media por encima del porcentaje de desviación indicado en la siguiente tabla y en ningún caso la desviación puede ser mayor de dos veces dicho porcentaje.

<i>Masa media (g)</i>	<i>% de desviación</i>
menor a 1,5	15
entre 1,5 y 2,0	10
mayor de 2,0	7,5

UNGÜENTOS

Son preparaciones semisólidas destinadas para la aplicación externa sobre la piel o mucosas y que emplean como vehículo grasas y/o resinas.

Existen diversos tipos de bases para ungüentos. La elección de la base depende de muchos factores, como la acción deseada, la naturaleza del principio activo a incorporar, su biodisponibilidad, la estabilidad y el período máximo de vida útil requerido para el producto terminado. Los principios activos que se hidrolizan rápidamente, son más estables en bases constituidas por hidrocarburos que en bases que contengan agua, aunque pueden ser más efectivas en estas últimas.

1095. POLIMORFISMO

Consideraciones generales

Se entiende por *Polimorfismo* a la capacidad de un compuesto en estado sólido de existir en dos o más formas cristalinas que tienen la misma composición química. Las sustancias que existen en estado sólido no-cristalino, son llamadas *amorfás*.

Cuando este fenómeno es observado para un elemento químico (por ejemplo azufre), corresponde usar el término *alotropía* en lugar de polimorfismo.

El término *pseudopolimorfismo* se suele utilizar para describir solvatos (incluyendo hidratos) cuando un solvente se halla presente en la matriz cristalina en proporciones estequiométricas; el ámbito puede también extenderse incluyendo compuestos en los cuales el solvente esté atrapado en la matriz en proporciones variables. Dado que el término *pseudopolimorfismo* es ambiguo debido a su uso en diferentes circunstancias, además de las precedentemente mencionadas, es preferible usar los vocablos “solvatos” e “hidratos”.

Cuando se indique que la sustancia *Presenta polimorfismo*, convencionalmente se involucra a cualquiera de las siguientes posibilidades: polimorfismo cristalino, solvatos, hidratos, formas amorfas o alotropía.

Aspectos Termodinámicos

Cuando un compuesto exhibe polimorfismo, la forma termodinámicamente más estable a una determinada temperatura y presión es la que presenta menor energía libre. Las otras formas son estados metaestables. A temperatura y presión normales, una forma metaestable puede permanecer inalterada o transformarse en otra termodinámicamente más estable. Este proceso puede ser lento o veloz, en función de la cinética del mismo.

La relación de transformación entre un par de polimorfos de una sustancia en un determinado intervalo de temperatura puede ser *enantiotrópica* o *monotrópica*:

- a) Es *enantiotrópica* cuando puede dividirse dicho intervalo de temperatura en dos zonas consecutivas, separadas por la temperatura de transición, siendo una de las formas polimórficas estable y la otra metaestable en la primera zona, mientras que en la segunda zona esa relación de estabilidad se invierte (las formas estable y metaestable en la

primera zona son respectivamente metaestable y estable en la segunda). En este caso, como se ha mencionado, existe una temperatura de transición entre ambas formas y la transformación es reversible. Cuando la transformación de una forma en otra tiene lugar a través de calentamiento, la transformación inversa se produce en principio por enfriamiento.

- b) Es *monotrópica* cuando en la totalidad del intervalo de temperatura en estudio, es estable solamente una de las dos formas. En este caso no existe temperatura de transición entre ambas y la transformación de la forma metaestable en la estable es irreversible.

Los diagramas de presión en función de la temperatura y de energía en función de la temperatura son herramientas valiosas para la total comprensión tanto de la relación energética (enantiotropismo, monotropismo), como de la estabilidad termodinámica de las modificaciones individuales de un compuesto polimórfico.

Obtención

Es posible obtener diferentes formas cristalinas o solvatos variando las condiciones de cristalización (temperatura, presión, solvente, concentración, velocidad de cristalización, sembrado del medio de cristalización, presencia y concentración de impurezas, etc.).

Propiedades

Para una misma sustancia, las distintas formas cristalinas y amorfas tienen el mismo comportamiento químico y físico cuando las moléculas están disueltas o cuando están fundidas, mientras que sus propiedades físico-químicas y sus características físicas en el estado sólido pueden ser ligera o ampliamente diferentes de acuerdo a la forma bajo la cual se presenten.

Las diferencias pueden encontrarse entre las siguientes propiedades:

- Forma y color de los cristales
- Propiedades térmicas (punto de fusión, calor de fusión, características de sublimación, entalpías de transición, calor específico, calores de reacción al estado sólido)
- Índice de refracción
- Diagramas de fase

- Densidad
- Dureza
- Resistencia mecánica
- Conductividad electrolítica
- Dilatabilidad
- Propiedades superficiales (tensión superficial, adsorbibilidad, humectabilidad, cargas eléctricas superficiales, etc.)
- Solubilidad aparente*
- Reactividad química al estado sólido
- Estabilidad a los estímulos mecánicos (humedad, radiación, calor, etc.)
- Estabilidad
- Características inherentes al polvo y/o granulado (densidad, reología, compactación, etc.)
- Características inherentes a las formas farmacéuticas (dureza, plasticidad, porosidad, craqueabilidad, elasticidad, etc.)

(*Solubilidad aparente: concentración del material en equilibrio aparente (sobresaturación). La “solubilidad aparente” se diferencia de la definición termodinámica de “solubilidad”, que es alcanzada a un tiempo infinito de equilibrio)

Esta diversidad de propiedades puede tener influencia en cualesquiera de los siguientes procedimientos:

Materias Primas:

- Diseño de proceso de síntesis;
- Elección de análisis cristalográficos adecuados;
- Estabilidad (condiciones de almacenamiento, vencimiento, envasado y otros).

Productos Terminados:

- Formulación;
- Diseño del proceso de fabricación;
- Adecuación de los análisis
- Estabilidad (condiciones de almacenamiento, vencimiento, envasado y otros).

Análisis

Las técnicas utilizadas para el análisis de polimorfismo son:

- Difracción de Rayos X (polvo y monocristal)
- *Análisis Térmico* <20> (Calorimetría Diferencial de Barrido, Termogravimetría, Termomicroscopía)
- Microcalorimetría
- Análisis de humedad de absorción
- *Determinación de punto de fusión* <260>
- Microscopía óptica y electrónica
- Resonancia Nuclear Magnética de estado sólido
- *Espectrofotometría de Absorción Infrarroja* <460>
- Espectrometría Raman
- Medición de solubilidad y velocidad intrínseca de disolución
- Medición de densidad

Estas técnicas son a menudo complementarias y es indispensable usar varias de ellas para una tipificación.

Para hidratos y solvatos, son recomendables las técnicas de Calorimetría Diferencial de Barrido, Termomicroscopía y Termogravimetría, combinadas con mediciones de Solubilidad, Velocidad de Disolución Intrínseca y Difracción de Rayos X.

1125. SUSTRATOS CELULARES PARA LA PRODUCCIÓN DE VACUNAS DE USO HUMANO

El presente texto establece los requisitos generales para líneas celulares diploides y líneas celulares continuas usadas en la producción de vacunas.

Línea celular diploide

Una línea celular diploide debe tener una alta pero finita capacidad de multiplicación *in vitro*.

Línea celular continua

Una línea celular continua debe tener la capacidad de multiplicarse indefinidamente *in vitro*, las células a menudo presentan diferencias en el cariotipo respecto a las células originales. Para vacunas inyectables producidas en líneas celulares continuas, debe validarse el proceso de purificación para demostrarse la remoción del DNA del sustrato celular a un nivel equivalente de 10 ng por dosis humana.

Sistema de banco de células

La producción de vacunas en líneas celulares diploides y en líneas celulares continuas se basa en el sistema de banco de células. La edad *in Vitro* de las células debe contarse a partir del banco maestro de células. Debe documentarse el uso, identidad y control de inventario de cada envase del banco maestro de células.

Medios de cultivo y sustancias de origen animal

Debe registrarse detalladamente la composición de los medios usados para el aislamiento y cultivo de células. En caso de utilizar sustancias de origen animal, las mismas deben ser libres de agentes extraños. Si se utiliza albúmina humana debe cumplir los requisitos de *Solución de Albúmina Humana*. El suero bovino usado para la preparación y mantenimiento de cultivos celulares debe ser estéril y libre de virus bovinos. La tripsina usada en la preparación de cultivos celulares debe ser estéril y libre de micoplasmas y virus.

Semilla celular

Los datos necesarios para evaluar la adecuabilidad de la semilla celular comprenden fuente, historia y caracterización de la misma.

Fuente de la semilla celular - Para líneas celulares de origen humano debe registrarse la siguiente información sobre el donante: origen geográfico y étnico, edad, sexo, condición fisiológica general, tejido u órgano usado, resultado de todos los ensayos para patógenos. Para líneas celulares de origen animal debe registrarse la siguiente información sobre la fuente de células:

especie, cepa, origen geográfico, edad, sexo, condición fisiológica general, tejido u órgano usado, resultado de todos los ensayos para patógenos. No pueden utilizarse para la producción de vacunas células de origen neural ya que las mismas pueden contener agentes transmisores de encefalopatías espongiiformes.

Historia de la semilla celular - Debe registrarse el método usado para aislar la semilla, métodos de cultivo y otros procedimientos usados para establecer el banco maestro de células.

Caracterización de la semilla celular -

- .- identidad de las células (por ejemplo mediante estudio de isoenzimas, serología o estudio de ADN)
- .- características de crecimiento y propiedades morfológicas
- .- cariotipo para líneas celulares diploides
- .- velocidad de duplicación para líneas celulares diploides.

Estabilidad del sustrato celular

Debe demostrarse la adecuada viabilidad de la línea celular en las condiciones de almacenamiento establecidas.

Agentes infecciosos extraños

Las líneas celulares usadas en la producción de vacunas deben estar libres de agentes infecciosos extraños. Dependiendo del origen y la historia del cultivo puede ser necesario llevar a cabo ensayos para contaminantes potenciales específicos., particularmente aquellos que pueden estar presentes en la especie de origen.

Tumorigenicidad

Las líneas celulares usadas para la producción de vacunas vivas no deben ser tumorigenic. Cuando se utilice una línea celular tumorigenica para la producción de otros tipos de vacuna, debe validarse el proceso de purificación para demostrar que el DNA residual del sustrato celular se reduce a menos de 10 ng por dosis.

Caracterización cromosómica

Para el caso que no se haya validado la remoción de células intactas durante el procesamiento posterior a la cosecha se debe llevar a cabo la caracterización de la línea celular diploide mediante análisis del cariotipo.

ENSAYOS

Identificación

Analizar el patrón de ácidos nucleicos y una selección cuidadosa de los siguientes ensayos:

- características bioquímicas (análisis de isoenzimas)
- características inmunológicas (antígenos de histocompatibilidad)
- marcadores citogenéticas.

Células contaminantes

El análisis del patrón de ácidos nucleicos llevado a cabo para la identificación también puede servir para demostrar la ausencia de células contaminantes.

Contaminación bacteriana y fúngica

El banco maestro de células y cada banco de trabajo de células deben cumplir con los requisitos de 370. *Ensayos de esterilidad* usando para cada medio 10 ml del sobrenadante fluido de los cultivos celulares. Realizar el ensayo sobre el 1 % de los envases con un mínimo de dos envases.

Micoplasmas

El banco maestro de células y cada banco de trabajo de células deben cumplir con los requisitos de 336. *Ensayo de Micoplasmas*.

Agentes extraños en cultivos celulares

Las células deben cumplir con los requisitos de *Virus hemadsorbentes* y *Agentes extraños en cultivos celulares en Cultivo celular de producción* en 415. *Ensayos para agentes extraños en vacunas virales de uso humano*.

Co-cultivo

Co-cultivar las células con otros sistemas celulares, incluyendo células humanas y células de simio. Examinar para detectar posibles cambios morfológicos y realizar los ensayos para determinar virus hemaglutinantes. Las células deben cumplir con los requisitos si no se encuentra evidencia de presencia de agentes extraños.

Retrovirus

Investigar la presencia de retrovirus usando ensayos de infectividad y microscopia electrónica. En caso de que ambos ensayos den resultados negativos, llevar a cabo la investigación de transcriptasa reversa (en presencia de magnesio y manganeso) sobre el pellet obtenido por centrifugación a alta velocidad.

Ensayos en animales

Inyectar por vía intramuscular (en el caso de ratones lactantes, por vía subcutánea profunda), al menos 10^7 células viables a cada uno de los siguientes grupos de animales repartidas por igual entre los animales de cada grupo:

- (a) dos camadas de ratones lactantes de menos de 24 h de edad, incluyendo al menos 10,
- (b) 10 ratones adultos,

Inyectar por vía intracerebral 10^6 células viables en cada uno de diez ratones adultos para detectar la presencia posible de virus de la coriomeningitis linfocítica. Observar los animales durante al menos 4 semanas. Estudiar los animales que enferman o manifiestan cualquier anomalía para establecer la causa de estos trastornos. Las células cumplen con los requisitos si no se encuentran indicios de la presencia de cualquier agente extraño. El ensayo sólo es válido si al menos el 80 por ciento de los animales de cada grupo permanece sano y sobrevive durante todo el período de observación.

Ensayos en huevos

Inyectar al menos 10^6 células viables en la cavidad alantoica de cada uno de diez huevos embrionados de gallina LPE de 9 a 11 días y en la yema de cada uno de diez huevos embrionados de gallina LPE de 5 a 6 días. Incubar durante no menos de 5 días. Analizar los fluidos alantoicos en busca de la presencia de hemaglutininas utilizando eritrocitos de ave, realizar el ensayo a 5 ± 3 °C y a una temperatura comprendida entre 20 y 25 °C y leer los resultados después de 30 y 60 minutos. Las células cumplen el ensayo si no se encuentran indicios de la presencia de cualquier agente extraño. El ensayo sólo es válido si al menos un 80 por ciento de los embriones permanecen sanos y sobreviven durante todo el período de observación.

Ensayo para tumorigenicidad *in vitro*

Realizar alguno de los sistemas de ensayos siguientes:

- Formación de colonias en gel de agar blando
- Producción de crecimiento celular invasivo luego de la inoculación en órganos
- Estudio de la actividad de transformación usando, por ejemplo, el sistema de ensayo 3T3 para oncogenes activos.

REACTIVOS Y SOLUCIONES

REACTIVOS Y SOLUCIONES

Consideraciones generales

En esta sección se describen los reactivos y las soluciones necesarias para realizar los ensayos y valoraciones de la Farmacopea.

Cuando tales especificaciones no existan y siempre que se indique emplear un grado analítico apropiado, se empleará un reactivo de calidad apropiada disponible comercialmente, preferiblemente que cumpla con normas de calidad reconocidas internacionalmente. Ocasionalmente, uno o varios ensayos adicionales, indicados en el texto, restringen la designación de grado apropiado. En el caso de aquellos reactivos que no son enumerados en esta sección, se pueden obtener especificaciones apropiadas en obras de referencia.

Cuando el nombre de un reactivo especificado en un ensayo o valoración es el mismo que el título de una monografía, y no aparece en las siguientes *Especificaciones de reactivos*, se empleará una sustancia que cumpla los requisitos de la monografía correspondiente.

Los reactivos y soluciones deben conservarse en envases de cierre perfecto, de vidrio resistente u otro material apropiado. Se deben observar cuidadosamente las instrucciones para el almacenamiento en envases inactínicos.

La espectrofotometría de absorción y emisión atómica requieren el empleo de varias soluciones estándar de iones metálicos. Mientras las monografías correspondientes proporcionan generalmente instrucciones para la preparación de estas soluciones, se permite el empleo de soluciones estandarizadas de iones preparadas comercialmente, siempre que el analista confirme la aptitud de las soluciones y posea datos que avalen su uso.

Definiciones

REACTIVOS - Son sustancias empleadas como tales o como elementos constitutivos de soluciones y se emplean para la realización de los ensayos y valoraciones del Compendio.

INDICADORES - Son reactivos empleados para determinar el punto final en una reacción química, para medir la concentración de ion hidrógeno (pH) o para indicar un cambio de pH. Se enumeran junto con los indicadores y los papeles.

SOLUCIONES REGULADORAS - Son soluciones reguladoras del pH.

SOLUCIONES COLORIMÉTRICAS - Son soluciones empleadas en la preparación de estándar colorimétricos para comparación. Se abrevian (SC).

SOLUCIONES DE REACTIVOS - Son soluciones de reactivos en solventes y concentraciones definidas, apropiadas para los fines especificados. Se abrevian (SR).

SOLUCIONES VOLUMÉTRICAS - Son soluciones de reactivos de concentración conocida empleadas principalmente en determinaciones volumétricas. Las concentraciones se expresan generalmente en función de la normalidad. Se abrevian (SV).

SOLUCIONES para ENSAYOS LIMITE - Son soluciones de reactivos en solventes con concentraciones definidas empleadas para ensayos límites y apropiadas para los fines especificados. Se abrevian (SL).

AGUA - Como en el resto de la Farmacopea, cuando se menciona *Agua* sin otra calificación, se debe emplear *Agua purificada*. El *Agua libre de dióxido de carbono* es agua purificada calentada a ebullición durante 5 minutos o más y enfriada, protegiéndola de la absorción de dióxido de carbono de la atmósfera.

El *Agua desaireada* empleada para otros propósitos que no sean el ensayo de disolución o de liberación de principios activos, es agua purificada que ha sido tratada de manera de reducir el contenido de aire disuelto por métodos apropiados, por ej., ebullición vigorosa durante 5 minutos y enfriando o aplicando ultrasonido.

SOLVENTES CROMATOGRÁFICOS y **GASES TRANSPORTADORES** - Los procedimientos cromatográficos establecidos en este Compendio pueden requerir el empleo de solventes y gases especialmente purificados para tal uso. Cuando en un procedimiento cromatográfico se emplean solventes y gases, es responsabilidad del analista asegurar la aptitud del solvente o del gas para un uso específico. Las especificaciones de los solventes y gases que aparecen aquí, se refieren a usos analíticos generales y no para uso cromatográfico, en este caso pueden ser necesarios productos especialmente purificados.

REACTIVOS

En las siguientes especificaciones se aplican estas definiciones. Un *blanco* consta de cantidades iguales de los mismos reactivos, tratados de la misma manera que la muestra. Un *control* es un blanco al cual se le ha agregado la cantidad límite de la sustancia a ensayar o es una solución de comparación preparada según se indica en los ensayos específicos.

Las comparaciones de color y turbidez se deben hacer en tubos de comparación de color que se correspondan lo más estrechamente posible en diámetro interno y en cualquier otro aspecto, según se indica en *Consideraciones generales* de este Compendio. Tales tubos se denominan frecuentemente tubos de Nessler.

Al hacer comparaciones visuales de la densidad de líquidos turbios, compensar las diferencias de color, si fuera necesario, observando la turbidez a través de una columna de agua, cuya profundidad se determina mediante el volumen determinado en la especificación del reactivo. Colocar el agua en tubos de comparación de color y sostener uno de los tubos encima del tubo control y el otro debajo del tubo que contiene la muestra.

Cuando aparece una expresión, como por ej., retener el filtrado se entenderá, a menos que se indique de otro modo, que los lavados del residuo no se agregarán al filtrado obtenido.

ENSAYOS GENERALES PARA REACTIVOS

Los siguientes ensayos se emplean para analizar los reactivos y así determinar el cumplimiento de las especificaciones de los reactivos individuales y deben emplearse a menos que se indique de otro modo en tales especificaciones.

INTERVALO DE EBULLICIÓN O DE DESTILACIÓN PARA REACTIVOS

Emplear el siguiente procedimiento para determinar el intervalo de ebullición o de destilación de reactivos, a menos que se indique de otro modo en las especificaciones individuales:

Aparato - Emplear un aparato similar al especificado en <240>. *Determinación del intervalo de destilación. Método I*, excepto que el matraz de destilación debe tener una capacidad de 250 ml, un cuello corto y estar conectado al condensador a través de un cabezal de destilación con juntas esmeriladas.

Procedimiento - Colocar el matraz de destilación en posición vertical en la perforación de la junta de asbesto y conectarlo al condensador.

Medir 100 ml del líquido que se va a ensayar en una probeta y transferirlo al matraz de ebullición junto con algunos trozos de material poroso. Recolectar el destilado en la probeta. Insertar el termómetro y calentar para destilar a una velocidad de 3 a 5 ml por minuto. Hacer un ensayo preliminar, si fuera necesario, para determinar la velocidad de calentamiento apropiada.

Leer el termómetro cuando hayan destilado aproximadamente 20 gotas y posteriormente a volúmenes de destilado de 5, 10, 40, 50, 60, 90 y

95 ml. Continuar la destilación hasta que se alcance el punto seco.

El *Intervalo de ebullición o destilación* es el intervalo entre las temperaturas a las que destilan 1 ml y 95 ml, respectivamente.

ARSÉNICO EN REACTIVOS

Para este ensayo, seleccionar reactivos que posean un contenido bajo de arsénico, de manera que un blanco no de lugar a manchas o produzca una apenas perceptible.

Aparato - Preparar un generador colocando un tapón de goma perforado en una botella de boca ancha de aproximadamente 60 ml de capacidad. Insertar a través de la perforación un tubo de salida vertical con una longitud total de aproximadamente 12 cm y 1 cm de diámetro a lo largo de la parte superior total (para aproximadamente 8 cm) y con un angostamiento en su extremidad inferior, formando un tubo de aproximadamente 4 cm de longitud y aproximadamente 5 mm de diámetro. La porción más pequeña del tubo debe extenderse levemente por debajo del tapón. Colocar arena lavada o una torunda de algodón purificado en la parte superior a aproximadamente 3 cm de la parte superior del tubo. Humedecer la arena o algodón uniformemente con acetato de plomo (SR) y extraer cualquier exceso de este último de las paredes del tubo. En el extremo superior de este tubo adosar un segundo tubo de vidrio de 12 cm de longitud, con un diámetro interno de 2,5 a 3 mm, por medio de un tapón de goma. Inmediatamente antes de realizar el ensayo, colocar en este tubo una tira de papel de bromuro mercuríco (ver *Indicadores y Papeles*), engarzado con el extremo superior de la tira de manera que permanezca, aproximadamente, a 2 cm por encima del tapón de goma. Limpiar y secar el tubo cada vez que se emplee.

Solución estándar de arsénico - Emplear la *Preparación estándar* preparada según se indica en <540>. *Límite de arsénico*.

Solución muestra - Agregar 1 ml de ácido sulfúrico a 5 ml de una solución de la sustancia a ensayar (1 en 25) a menos que se indique otra cantidad. Omitir el agregado en el caso de ácidos inorgánicos. A menos que se indique de otro modo, agregar 10 ml de ácido sulfuroso. Evaporar el líquido en un vaso de precipitados, en un baño de vapor, hasta que esté exento de ácido sulfuroso y se haya reducido el volumen a aproximadamente 2 ml.

Diluir con agua a 5 ml para obtener la *Solución muestra*. Las sustancias sometidas a tratamientos especiales, según se indica en las especificaciones individuales del reactivo, pueden emplearse directamente como *Solución muestra*.

Mancha estándar - Transferir al generador 5 ml de ioduro de potasio (SR), 2,0 ml de *Solución estándar de arsénico*, 5 ml de cloruro de estaño (SR) y 28 ml de agua. Agregar 1,5 g de cinc granulado (en polvo) e insertar de inmediato el tapón que contiene el tubo de salida. Durante el periodo de ensayo, mantener el generador inmerso en agua a 25 °C para moderar la reacción de tal manera que la mancha tome la forma de una banda distintiva para facilitar la comparación de intensidad de color. Una vez que la evolución de hidrógeno haya continuado durante 1 hora, retirar el papel de bromuro mercúrico para su comparación. Esta mancha representa 2 µg de arsénico.

Procedimiento - Transferir al generador 5 ml de ioduro de potasio (SR) y 5 ml de la *Solución muestra* y agregar 5 ml de cloruro estannoso (SR). Colocar el aparato a temperatura ambiente durante un periodo de 10 minutos, a continuación agregar 25 ml de agua y 1,5 g de cinc granulado y proceder según se indica en *Mancha estándar*. Retirar el papel de bromuro mercúrico y comparar la mancha con la *Mancha estándar*: la mancha producida por el producto químico ensayado no excede la *Mancha estándar* en longitud o intensidad de color, indicando no más de 10 ppm de arsénico en la sustancia a ensayar. Dado que la luz, el calor y la humedad pueden hacer que la mancha se borre rápidamente, colocar los papeles en tubos limpios y secos y realizar las comparaciones rápidamente.

Interferencias - El Antimonio, si está presente en la sustancia de ensayo, produce una mancha gris. Los sulfitos, sulfuros, tiosulfatos y otros compuestos que liberan sulfuro de hidrógeno o dióxido de azufre cuando se tratan con ácido sulfúrico, se deben oxidar con ácido nítrico y luego reducirse con dióxido de azufre, según se indica en *Solución muestra*, antes de ser colocados en el aparato. Ciertos compuestos de azufre, así como la fosfina, producen una banda amarilla brillante en el papel. Si el material contiene compuestos azufrados, el algodón o la arena humedecidos con acetato de plomo se oscurecerán. En ese caso, repetir la operación, según se indica en *Solución muestra*, sobre una porción de *Solución muestra* recientemente preparada, y asegurar la completa eliminación del ácido sulfuroso. Cuando se ensayen hipofosfitos, asegurarse bien de que se oxide completamente la *Solución muestra*, de otro modo, la evolución de la fosfina puede dar lugar a una mancha amarilla que se puede confundir con el color amarillo anaranjado producido por la arsina. La mancha producida por la fosfina puede diferenciarse de la producida por la arsina si se la humedece con hidróxido de amonio 6 N. Una mancha causada por arsina se torna oscu-

ra cuando es tratada, pero una mancha producida por fosfina no cambia de color.

CLORURO EN REACTIVOS

Solución estándar de cloruro - Disolver 165,0 mg de cloruro de sodio seco en agua para obtener 1 litro de solución. Esta solución contiene el equivalente de 0,10 mg de cloro (Cl) en cada ml.

Procedimiento - Neutralizar una solución de la cantidad del reactivo indicada en el ensayo, en caso de que fuera alcalina, en 25 ml de agua o una solución preparada según se indica en el ensayo, con ácido nítrico, empleando papel de tornasol como indicador y agregar 3 ml adicionales de ácido nítrico. Filtrar la solución, si fuera necesario, a través de un papel de filtro previamente lavado con agua, hasta que el papel esté exento de cloruro y agregar 1 ml de nitrato de plata (SR). Mezclar y dejar reposar durante 5 minutos al abrigo de la luz directa. Comparar la turbidez, si la hay, con la producida por un control realizado con cantidades iguales de los mismos reactivos, como si fuera el ensayo final y un volumen de *Solución estándar de cloruro* equivalente a la cantidad de cloruro (Cl) permitida por el ensayo. Ajustar las dos soluciones con agua al mismo volumen, antes de agregar el nitrato de plata (SR), y comparar las turbiedades.

Al ensayar sales de bario, neutralizar la solución que contiene el reactivo, si ésta fuera alcalina, con ácido nítrico y agregar sólo 3 gotas más de ácido nítrico. Realizar el resto del ensayo según se describió previamente.

Al ensayar sales que dan soluciones de color, disolver 2 g del reactivo en 25 ml de agua y agregar 3 ml de ácido nítrico. Filtrar la solución, si fuera necesario, a través de un papel de filtro previamente lavado con agua y fraccionar el filtrado en dos porciones iguales. Tratar una porción con 1 ml de nitrato de plata (SR), dejar reposar durante 10 minutos y, si se produce turbidez, filtrar a través de un papel de filtro lavado hasta obtener un filtrado transparente y emplear el filtrado como blanco. Tratar la otra porción con 1 ml de nitrato de plata (SR), mezclar y dejar reposar durante 5 minutos al abrigo de la luz directa. Comparar la turbidez con la producida por el blanco, mediante el agregado de un volumen de *Solución estándar de cloruro* equivalente a la cantidad de cloruro (Cl) permitido en el ensayo, ajustando ambas soluciones con agua al mismo volumen.

ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN Y EMISIÓN ATÓMICA PARA REACTIVOS

Se requiere el empleo de la espectrofotometría de absorción y emisión atómica para determinar trazas de calcio, potasio, sodio y estroncio en algu-

nas *Especificaciones de reactivos*. La aptitud de tales determinaciones depende del empleo de aparatos apropiados. El espectrofotómetro de absorción y emisión atómica más apropiado posee un fototubo sensible al rojo, un fototubo multiplicador, un monocromador, un control para regular el ancho de banda, un interruptor selector y un control de sensibilidad. Se pueden emplear otros tipos de espectrofotómetros, siempre que el analista haya demostrado que el aparato determinará exactamente la cantidad de impurezas admitidas en el reactivo que se va a ensayar.

Los procedimientos requieren una *Solución muestra* y una *Solución control*. Para la *Solución muestra*, se disuelve una cantidad pesada de muestra y se diluye a un volumen determinado. Para la *Solución control*, se disuelve la misma cantidad de muestra, se agregan las cantidades límites de las presuntas impurezas y a continuación, se diluye la solución al mismo volumen determinado para la *Solución muestra*. El espectrofotómetro de absorción y emisión atómica se fija según se indica en los procedimientos generales y luego se ajusta para dar una lectura de emisión tan cercana al 100 % de transmitancia como sea posible en la *Solución control*, a la longitud de onda especificada para la impureza específica. Sin alterar los parámetros del aparato, la emisión de la *Solución muestra* se lee a la misma longitud de onda y a la longitud de onda de fondo especificada. A continuación se emplea la lectura de fondo para corregir la emisión observada en la *Solución muestra* para la emisión, ocasionada por la muestra y el solvente. La muestra ensayada contiene menos del límite de impureza especificado, si la diferencia entre la emisión de fondo observada y la emisión de la *Solución muestra* es menor que la diferencia entre la emisión observada para la *Solución control* y la *Solución muestra*, a la longitud de onda designada para la impureza específica.

Calcio en reactivos

Solución estándar de calcio - Disolver 250 mg de carbonato de calcio en una mezcla de 20 ml de agua y 5 ml de ácido clorhídrico diluido y, cuando la disolución se complete, diluir con agua a 1 litro. Esta solución contiene 0,10 mg de calcio (Ca) por ml.

Procedimiento - Emplear la *Solución muestra* y la *Solución control* preparadas según se indica en *Procedimiento* del ensayo individual.

Fijar el control de ancho de banda de un espectrofotómetro de absorción y emisión atómica apropiado a 0,03 mm y fijar el interruptor selector a 0,1. Ajustar el aparato para que produzca la máxima emisión con la *Solución control* en la línea de calcio de 422,7 nm y registrar la transmitancia. Sin cam-

biar ningún parámetro del aparato, registrar la transmitancia para la emisión de la *Solución muestra* a 422,7 nm. Cambiar el monocromador a la longitud de onda especificada en *Procedimiento* del ensayo individual, y registrar la transmitancia de fondo para la emisión de fondo de la *Solución muestra*: la diferencia entre las transmitancias de la *Solución muestra* a 422,7 nm y a la longitud de onda de fondo no es mayor que la diferencia entre las transmitancias observadas a 422,7 nm para la *Solución muestra* y la *Solución control*.

Potasio en reactivos

Solución estándar de potasio - Disolver 191 mg de cloruro de potasio en unos pocos ml de agua y diluir con agua a 1 litro. Diluir una porción de esta solución con agua en una relación de 1 a 10 para obtener una concentración de 0,01 mg de potasio (K) por ml.

Procedimiento - Emplear la *Solución muestra* y la *Solución control*, preparadas según se indica en *Procedimiento* del ensayo individual. [NOTA: al ensayar sales de calcio, emplear un mechero de oxígeno-hidrógeno.]

Fijar el control de ancho de banda de un espectrofotómetro de absorción y emisión atómica apropiado, equipado con un detector sensible al rojo, a 0,1 mm, a menos que se indique de otro modo, y fijar el interruptor selector a 0,1. Ajustar el aparato para que produzca la máxima emisión con la *Solución control* en la línea de potasio a 766,5 nm y registrar la transmitancia. Sin cambiar ningún parámetro del aparato, registrar la transmitancia para la emisión de la *Solución muestra* a 766,5 nm. Cambiar el monocromador a 750 nm, y registrar la transmitancia de fondo para la emisión de fondo de la *Solución muestra*: la diferencia entre las transmitancias de la *Solución muestra* a 766,5 y a 750 nm no es mayor que la diferencia entre las transmitancias observadas a 766,5 nm para la *Solución muestra* y la *Solución control*.

Sodio en reactivos

Solución estándar de sodio - Disolver 254 mg de cloruro de sodio en unos pocos ml de agua y diluir con agua a 1 litro. Diluir una porción de esta solución con agua en una relación de 1 a 10 para obtener una concentración de 0,01 mg de sodio (Na) por ml.

Procedimiento - Emplear la *Solución muestra* y la *Solución control* preparadas según se indica en el *Procedimiento* del ensayo individual.

Fijar el control de ancho de banda de un espectrofotómetro de absorción y emisión atómica apropiado a 0,01 mm y fijar el interruptor selector a 0,1. Ajustar el aparato para que produzca la máxima

emisión con la *Solución control* en la línea de sodio a 589 nm y registrar la transmitancia. Sin modificar ningún parámetro del aparato, registrar la transmitancia de la emisión de la *Solución muestra* a 589 nm. Cambiar el monocromador a 580 nm y registrar la transmitancia de fondo para la emisión de fondo de la *Solución muestra*: la diferencia entre las transmitancias para la *Solución muestra* a 589 y a 580 nm no es mayor que la diferencia entre las transmitancias observadas a 589 nm para la *Solución muestra* y la *Solución control*.

Estroncio en reactivos

Solución estándar de estroncio - Disolver 242 mg de nitrato de estroncio en unos pocos ml de agua, y diluir con agua a 1 litro. Diluir una porción de esta solución con agua en una relación de 1 a 10 para obtener una concentración de 0,01 mg de estroncio (Sr) por ml.

Procedimiento - Emplear la *Solución muestra* y la *Solución control* preparadas según se indica en *Procedimiento* del ensayo individual.

Fijar el control de ancho de banda de un espectrofotómetro de absorción y emisión atómica apropiado a 0,03 mm y fijar el interruptor selector a 0,1. Ajustar el aparato para dar la máxima emisión con la *Solución control* en la línea de estroncio a 460,7 nm y registrar la transmitancia. Sin modificar ningún parámetro del aparato, registrar la transmitancia para la emisión de la *Solución muestra* a 460,7 nm. Cambiar el monocromador a la longitud de onda especificada en *Procedimiento* del ensayo individual y registrar la transmitancia de fondo de la emisión de fondo de la *Solución muestra*: la diferencia entre las transmitancias para la *Solución muestra* a 460,7 nm y a la longitud de onda de fondo no es mayor que la diferencia entre las transmitancias observadas a 460,7 nm para la *Solución muestra* y la *Solución control*.

METALES PESADOS EN REACTIVOS

Solución estándar de plomo - Emplear *Solución estándar de plomo* (ver 590. *Límite de metales pesados*). Cada mililitro de esta solución contiene el equivalente a 0,01 mg de Pb.

Procedimiento - A menos que se indique de otro modo, determinar el límite de metales pesados del siguiente modo:

- a- Si el límite de metales pesados es 0,0005 % (5ppm), disolver 6,0 g de muestra en agua para obtener 42 ml.
- b- Si el límite de metales pesados es 0,001 % (10ppm) o mayor, o en caso de solubilidad limitada, emplear 4 g, disolver en agua y llevar a 40 ml, calentando para disolver si fuera necesario.

Para la *Solución control* transferir 7 ml de la solución (a) a un tubo de comparación de color y agregar un volumen de *Solución estándar de plomo* equivalente a la cantidad de plomo admitida en 4 g del reactivo. Diluir con agua a 35 ml y agregar ácido acético diluido, o amoníaco (SR), hasta que el pH, determinado potenciométricamente, sea aproximadamente 3,5. Diluir con agua a 40 ml y mezclar. Transferir los restantes 35 ml de la solución (a) a un tubo de comparación de color igual al empleado para la *Solución control* y agregar ácido acético diluido, o amoníaco (SR), hasta que el pH, determinado potenciométricamente, sea aproximadamente 3,5. Diluir con agua a 40 ml y mezclar. A continuación, agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR) a cada tubo, mezclar y comparar los colores observando hacia abajo a través del tubo de comparación de color contra una superficie blanca. El color en la *Solución muestra* no es más oscuro que el de la *Solución control*.

Si la solución del reactivo está preparada según se especifica en (b), emplear para la *Solución control* 10ml de la solución y agregarle un volumen de *Solución estándar de plomo* equivalente a la cantidad de plomo admitida en 2 g del reactivo. Diluir los restantes 30 ml de solución (b) con agua a 35 ml y proceder según se indica en el párrafo anterior, comenzando desde donde dice “*agregar ácido acético diluido, o amoníaco (SR)...*”.

Si el reactivo que se va a ensayar para detectar metales pesados es una sal de un ácido orgánico alifático, sustituir el ácido acético diluido especificado en el método anterior por ácido clorhídrico 1 N.

MATERIA INSOLUBLE EN REACTIVOS

Disolver la cantidad de reactivo especificada en el ensayo en 100 ml de agua, calentar a ebullición, a menos que se indique de otro modo, en un vaso de precipitados cubierto en un baño de vapor durante 1 hora. Filtrar la solución caliente a través de un crisol de vidrio sinterizado de porosidad fina, previamente pesado. Lavar el vaso de precipitados y el filtro con agua caliente, secar a 105 °C, enfriar en un desecador y pesar.

PÉRDIDA POR SECADO PARA REACTIVOS

Determinar según se indica en <680>. *Pérdida por secado*.

NITRATO EN REACTIVOS

Solución estándar de nitrato - Disolver 163 mg de nitrato de potasio en agua, agregar agua hasta obtener 100 ml. Diluir 10 ml de esta solución con agua a 1 litro, para obtener una solución que contenga el equivalente a 0,01 mg de NO₃ por mililitro.

Solución de sulfato de brucina - Disolver 600 mg de sulfato de brucina en 600 ml de ácido sulfúrico diluido libre de nitrato (2 en 3), previamente enfriado a temperatura ambiente y diluir con el ácido a 1 litro. [NOTA: preparar el ácido sulfúrico libre de nitratos agregando 4 partes de ácido sulfúrico a 1 parte de agua, calentando la solución hasta que se desprendan vapores densos de trióxido de azufre y enfriándola. Repetir la dilución y el calentamiento tres o cuatro veces.]

Solución muestra - Al peso de muestra especificado para el reactivo, disuelto en el volumen designado de agua, agregar *Solución de sulfato de brucina* hasta obtener 50 ml.

Solución control - Agregar el peso de muestra especificado para el reactivo, a un volumen de *Solución estándar de nitrato* equivalente al peso de nitrato (NO₃) especificado para el reactivo y a continuación agregar *Solución de sulfato de brucina* hasta obtener 50 ml.

Solución blanco - Emplear 50 ml de *Solución de sulfato de brucina*.

Procedimiento - Calentar la *Solución muestra*, la *Solución control* y la *Solución blanco* en un baño de agua hirviendo durante 10 minutos, luego enfriar rápidamente en un baño de hielo a temperatura ambiente. Ajustar la lectura del aparato a cero, a 410 nm, con la *Solución blanco*. Determinar la absorbancia de la *Solución muestra*, registrar el resultado y ajustar el aparato a cero con la *Solución muestra*. Determinar la absorbancia de la *Solución control*: la lectura de absorbancia para la *Solución muestra* no es mayor a la de la *Solución control*.

COMPUESTOS NITROGENADOS EN REACTIVOS

Procedimiento - A menos que se indique de otro modo, detectar compuestos nitrogenados de la siguiente manera: disolver la cantidad especificada de muestra en 60 ml de agua libre de amoníaco, en un matraz de Kjeldahl conectado a través de una trampa a un condensador, cuyo extremo se sumerge en 10 ml de ácido clorhídrico 0,1 N. Agregar 10 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 10) recientemente hervida al matraz de Kjeldahl y 500 mg de alambre de aluminio, cortado en piezas pequeñas, dejar reposar durante 1 hora, evitando la pérdida de amoníaco y la exposición al mismo. Destilar 35 ml y diluir el destilado con agua a 50 ml. Agregar 2 ml de solución de hidróxido de sodio recientemente hervida (1 en 10), mezclar, agregar 2 ml de iodo-mercuriato de potasio alcalino (SR) y mezclar nuevamente: el color producido no es más oscuro que el de una *Solución control* que contenga la cantidad agregada de N (como cloruro de amonio), especificada en *Procedimiento* del ensayo individual.

FOSFATO EN REACTIVOS

Solución estándar de fosfato - Disolver 143,3 mg de fosfato monobásico de potasio seco, KH₂PO₄, en agua para obtener 1 litro. Esta solución contiene el equivalente a 0,10 mg de fosfato (PO₄) en cada mililitro.

Reactivo para fosfato A - Disolver 5 g de molibdato de amonio en ácido sulfúrico 1 N para obtener 100 ml.

Reactivo para fosfato B - Disolver 200 mg de p-metilaminofenol sulfato en 100 ml de agua y agregar 20 g de bisulfito de sodio. Almacenar este reactivo en botellas totalmente llenas, tapadas perfectamente y emplear dentro del mes de su preparación.

Procedimiento - [NOTA: los ensayos con la *Solución muestra* y la *Solución control* se hacen en tubos de comparación.] Disolver la cantidad del reactivo especificado en el ensayo o el residuo obtenido después del tratamiento prescrito, en 20 ml de agua, calentando, si fuera necesario. Agregar 2,5 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 7) y diluir con agua a 25 ml. [NOTA: si se prefiere, la muestra o el residuo pueden disolverse en 25 ml de ácido sulfúrico aproximadamente 0,5 N.] Luego agregar 1 ml de *Reactivo para fosfato A* y 1 ml de *Reactivo para fosfato B*, mezclar y dejar reposar a temperatura ambiente durante 2 horas. Comparar el color azul producido con el de una *Solución control* preparada con iguales cantidades de los mismos reactivos que el ensayo con la *Solución muestra* y un volumen de *Solución estándar de fosfato* equivalente a la cantidad de fosfato (PO₄) establecida en las especificaciones del reactivo.

RESIDUO DE IGNICIÓN EN REACTIVOS

Procedimiento - A menos que se indique de otro modo, determinar el residuo de ignición de la siguiente forma: pesar exactamente entre 1 y 2 g de la sustancia a ensayar en un crisol apropiado, el cual previamente se ha sometido a ignición, enfriado y pesado. Someter a ignición la sustancia, suave y lentamente al principio y luego a una velocidad mayor, hasta que se carbonice totalmente, si la sustancia es orgánica, o hasta que se volatilice completamente, si la sustancia es inorgánica. Si se especifica el empleo de ácido sulfúrico, enfriar el crisol, agregar la cantidad especificada de ácido e incinerar el crisol suavemente hasta que no se desprendan más gases. Luego someter a ignición el crisol a 800 ± 25 °C, enfriar en un desecador apropiado y pesar. Si no se especifica el empleo de ácido sulfúrico, el crisol no necesita enfriarse pero se puede someter a ignición directamente a 800 ± 25 °C una vez que se haya carbonizado o volatilizado por completo. Continuar la ignición

hasta peso constante, a menos que se especifique de otro modo.

Realizar la ignición en una campana extractora bien ventilada, pero proteger de las corrientes de aire y efectuar la combustión completa del carbono a la menor temperatura posible. Se puede emplear una mufla pero su empleo se recomienda para la ignición final a 800 ± 25 °C.

SULFATO EN REACTIVOS

Solución estándar de sulfato - Disolver 181,4 mg de sulfato de potasio, previamente secado a 105 °C durante 2 horas, en agua para obtener 1 litro. Esta solución contiene el equivalente a 0,10 mg de sulfato (SO₄) por mililitro.

Procedimiento -

MÉTODO I - Neutralizar una solución de la cantidad del reactivo o residuo indicado en el ensayo en 25 ml de agua, si fuera necesario, o una solución preparada según se indica en el ensayo, con ácido clorhídrico o con amoníaco (SR), empleando papel de tornasol como indicador. Agregar 1 ml de ácido clorhídrico 1 N. Filtrar la solución, si fuera necesario, a través de un papel de filtro previamente lavado con agua y agregar 2 ml de cloruro de bario (SR). Mezclar, dejar reposar durante 10 minutos y comparar la turbidez, si la hubiera, con la producida por una *Solución control* que contiene las mismas cantidades de los mismos reactivos empleados en el ensayo y una cantidad de *Solución estándar de sulfato*, equivalente a la cantidad de sulfato (SO₄) permitida por el ensayo. Ajustar las dos soluciones con agua al mismo volumen antes de agregar el cloruro de bario (SR).

MÉTODO II - Calentar a ebullición la solución preparada según se indica en *Procedimiento* del ensayo individual o el filtrado designado en *Procedimiento*. Agregar 5 ml de cloruro de bario (SR). A continuación digerir la solución en un baño de vapor durante 2 horas y dejar reposar de la noche a la mañana. Si se forma precipitado, filtrar la solución a través de papel de filtro, lavar el residuo con agua caliente, y transferir el papel de filtro que contiene el residuo a un crisol previamente pesado. Carbonizar el papel de filtro, sin quemarlo, y someter a ignición el crisol y su contenido hasta peso constante. Realizar una determinación con un blanco y restar el peso del residuo obtenido para éste del obtenido en la determinación de la muestra para obtener el peso de sulfato de la muestra.

ESPECIFICACIONES DE RECTIVOS

A

Aceite de cedro (para aclarar preparados microscópicos) - Debe emplearse para este fin, aceite seleccionado y destilado de la madera del cedro rojo, *Juniperus virginiana* Linneo (Fam. Pinaceae). Índice de refracción: aproximadamente 1,504 a 20 °C. Para uso con lentes de inmersión homogénea se requiere un aceite especialmente preparado que tiene un índice de refracción de $1,5150 \pm 0,0002$, a 20 °C.

Aceite mineral - Emplear *Vaselina líquida*.

Acetaldehído - CH_3CHO - (PM: 44,1) - Líquido incoloro. Miscible con agua y alcohol.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a 30 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 30 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 150 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico CH_3CHO no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,330 y 1,334, a 20 °C.

Acetanilida - $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}$ - (PM: 135,2) - Cristales blancos, con brillo, generalmente en escamas o polvo cristalino blanco. Es inodoro y estable al aire. Poco soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol y cloroformo; soluble en agua hirviendo, éter y glicerina.

Intervalo de fusión <260> - Entre 114 y 116 °C.

Reacción - Su solución saturada es neutra frente al tornasol.

Pérdida por secado <680> - Secar sobre ácido sulfúrico durante 2 horas: no pierde más de 0,5 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,05 %.

Acetato cobaltoso - (*Acetato de Cobalto*) - $\text{Co}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 249,1) - Cristales rojos en forma de agujas. Soluble en agua y alcohol.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 5 g disueltos en 100ml de agua que contiene 2 ml de ácido acético glacial (0,02 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,1 mg de Cl (0,01 %).

Nitrato - Disolver 500 mg en 10 ml de agua, agregar, con agitación, 10 ml de hidróxido de sodio (SR) y calentar en un baño de vapor durante 30 minutos. Enfriar, diluir a 20 ml con agua, mezclar y filtrar. A 10 ml del filtrado agregar 5 mg de cloruro de sodio, 0,1 ml de índigo carmín (SR) y 10 ml de ácido sulfúrico: el color azul no desaparece por completo en 1 minuto (aproximadamente 0,02 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método II*. El filtrado del ensayo para *Materia insoluble*, excluyendo los lavados, no proporciona más de 2,5 mg de residuo (0,02 %).

Sustancias no precipitadas por sulfuro de hidrógeno - Disolver 2 g en aproximadamente 90 ml de agua y agregar 2 g de cloruro de amonio y suficiente amoníaco (SR) para redissolver el precipitado formado. Hacer pasar sulfuro de hidrógeno a través de esta solución hasta que el cobalto precipite completamente. Diluir con agua a 100,0 ml, mezclar y filtrar. Evaporar 50 ml del filtrado casi hasta sequedad, agregar 0,5 ml de ácido sulfúrico y someter a ignición a 800 ± 25 °C hasta peso constante: el residuo no pesa más 3 mg (0,3 % como SO_4).

Cobre - Disolver 500 mg en 30 ml de agua y agregar 1 ml de ácido clorhídrico (A). Disolver otros 500 mg en 20 ml de agua y agregar 1 ml de ácido clorhídrico y 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR) (B). No se observa ninguna diferencia en color notoria entre A y B.

Niquel - Disolver 1 g en 200 ml de agua, agregar 1 g de citrato de sodio, calentar a ebullición. Agregar 100 ml de una solución alcohólica de dimetilglioxima (1 en 100) luego agregar 15 ml de amoníaco (SR) y dejar reposar de la noche a la mañana. Filtrar a través de un crisol filtrante previamente pesado, lavar con agua luego con alcohol diluido y secar a 105 °C hasta peso constante: el precipitado no pesa más de 25 mg (0,5 %).

Acetato cúprico - $\text{Cu}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ - (PM:199,7) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetato de amilo - (*Acetato de isoamilo*) - $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{C}_5\text{H}_{11}$ - (PM: 130,2) - Líquido claro, incoloro con olor a esencia de banana. Algo soluble en agua. Miscible con alcohol, alcohol amílico y éter. Densidad relativa: aproximadamente 0,87.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - *Método I.* No menos de 90 % destila entre 137 y 142°C.

Solubilidad en alcohol diluido - 1,0 ml se disuelve en 20 ml de alcohol diluido para formar una solución transparente.

Acidez - Agregar 5,0 ml a 40 ml de alcohol neutralizado y, si se produce color rosado, titular con hidróxido de sodio 0,10 N: no se requieren más de 0,20 ml para restaurar el color rosado (aproximadamente 0,02 % como CH₃COOH).

Agua - 5 ml con 5 ml de disulfuro de carbono proporciona una solución transparente.

Acetato de amonio - NH₄C₂H₃O₂ - (PM: 77,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetato de n-butilo - CH₃COO(CH₂)₃CH₃ - (PM: 116,2) - Líquido transparente, incoloro, de olor característico. Poco soluble en agua; miscible con alcohol. Densidad relativa: aproximadamente 0,88.

Intervalo de destilación <240> - No menos de 95% destila entre 123 y 126 °C.

Acetato de butilo normal - Ver Acetato de n-butilo.

Acetato de cadmio - C₄H₆CdO₄ · 2H₂O - (PM: 266,5) - Cristales incoloros, transparentes a translúcidos. Inodoro o con leve olor a ácido acético. Fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 20 g (0,005 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,01 mg de Cl (0,001 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método II.* Disolver 10 g en 100 ml de agua, agregar 1 ml de ácido clorhídrico y filtrar: el residuo no pesa más de 1,2 mg que el residuo obtenido en un ensayo en blanco (0,005 %).

Sustancias no precipitadas por sulfuro de hidrógeno - Disolver 2 g en una mezcla de 135 ml de agua y 15 ml de ácido sulfúrico 1 N, calentar a ebullición y hacer pasar una corriente rápida de sulfuro de hidrógeno a través de la solución a medida que ésta se enfría. Filtrar y a 75 ml del filtrado transparente agregar 0,25 ml de ácido sulfúrico luego evaporar hasta sequedad y someter a ignición suavemente: el residuo pesa no más de 1 mg (0,1 %).

Acetato de calcio - Ca(C₂H₃O₂)₂ · H₂O - (PM: 176,2) - Polvo cristalino o gránulos de color blanco. Fácilmente soluble en agua; poco soluble en alcohol.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1,0 mg, determinado sobre 10 g (0,010 %).

Alcalinidad y acidez - A una solución de 2,0 g en 25 ml de agua agregar fenolftaleína (SR): no se produce color rosado. Luego agregar hidróxido de sodio 0,10 N hasta que se produzca color rosado después de agitar: no se requieren más de 0,70 ml de álcali (0,2% como CH₃COOH).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,05 mg de Cl (0,005 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I.* 1 g no presenta más de 0,4 mg de SO₄ (0,04 %).

Álcalis y magnesio - Disolver 1 g en 50 ml de agua. Agregar 2 ml de ácido clorhídrico, calentar a ebullición y agregar 35 ml de solución de ácido oxálico (1 en 20). Lentamente neutralizar la solución, mientras se enfría, con agua de amoníaco fuerte luego diluir con agua a 100 ml y dejar reposar durante 4 horas o de la noche a la mañana. Filtrar y a 50 ml del filtrado agregar 5 gotas de ácido sulfúrico, evaporar y someter a ignición hasta peso constante: el residuo no es mayor a 1,5 mg (0,3 % como SO₄).

Bario - Disolver 2 g en 15 ml de agua, agregar 2 gotas de ácido acético glacial, filtrar y agregar al filtrado 0,3 ml de solución de dicromato de potasio (1 en 10): no se produce turbidez dentro de los 10 minutos de preparado (aproximadamente 0,01 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 0,001 %.

Hierro <580> - Disolver 500 mg en 47 ml de agua que contiene 2 ml de ácido clorhídrico. La solución no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,002 %).

Acetato de cinc - Zn(CH₃COO)₂ · 2H₂O - (PM: 219,5) - Cristales incoloros o placas blancas, cristalinas, con leve olor a ácido acético. Fácilmente soluble en agua y moderadamente en alcohol.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - 20 g disueltos en 200 ml de agua y 2 ml de ácido acético glacial no presentan más de 1,0 mg de materia insoluble (0,005 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 2 g no presentan más de 0,01 mg de Cl (5 ppm).

Nitrato - Disolver 1 g en 10 ml de agua y 50 µl de índigo carmín (SR) y luego agregar 10 ml de ácido sulfúrico: el color azul persiste durante 5 minutos (aproximadamente 0,005 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I.* Disolver 20 g en 200 ml de agua, agregar 1 ml de ácido clorhídrico y filtrar: el filtrado, con 10 ml de cloruro de bario (SR), no proporciona más de 1,0 mg de residuo (0,002 % como SO₄).

Metales alcalinos y alcalino térreos - Disolver 2 g en 140 ml de agua, agregar 10 ml de agua de amoníaco fuerte, precipitar completamente el cinc

con sulfuro de hidrógeno y filtrar. A 75 ml del filtrado agregar 5 gotas de ácido sulfúrico, evaporar y someter a ignición: el residuo no pesa más de 1 mg (0,1 %).

Arsénico <540> - Disolver 6 g en agua: no más de 0,5 ppm.

Hierro <580> - Disolver 2 g en 45 ml de agua y agregar 2 ml de ácido clorhídrico: la solución no presenta más de 0,01 mg (5 ppm).

Plomo <600> - Disolver 1 g en 20 ml de agua. A 5 ml de la solución, agregar 0,02 mg de Pb y 12 ml de solución de cianuro de potasio (3 en 20) y diluir con agua a 50 ml (A). A los restantes 15 ml agregar 12 ml de la solución de cianuro de potasio y diluir a 50 ml con agua (B). Luego a cada uno agregar 5 gotas de sulfuro de sodio (SR): B no es más oscuro que A (0,004 %).

Acetato de etilo - $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ - (PM: 88,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetato de estroncio - $\text{Sr}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 214,7) - Polvo blanco, cristalino. Fácilmente soluble en agua; poco soluble en alcohol.

Valoración - Someter a ignición aproximadamente 3 g, exactamente pesados, en un crisol de platino. Enfriar, transferir el crisol con el residuo a un vaso de precipitados y agregar 50 ml de agua y 40,0 ml de ácido clorhídrico 1 N (SV). Calentar a ebullición suavemente durante 30 minutos o más, si fuera necesario, filtrar, lavar con agua caliente hasta que los lavados sean neutros, agregar rojo de metilo (SR) y titular el ácido en exceso con hidróxido de sodio 1 N (SV). Cada mililitro de ácido clorhídrico 1 N equivale a 107,4 mg de $\text{Sr}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$. Contiene no menos de 99 %.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 2 mg, determinado sobre 10 g (0,02 %).

Alcali libre o ácido libre - Disolver 3 g en 30 ml de agua y agregar 3 gotas de fenolftaleína (SR): no se produce color rosado. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) hasta color rosado. No se requieren más de 0,30 ml de hidróxido de sodio 0,1 N.

Bario - Disolver 1 g en 10 ml de agua y agregar 1 gota de ácido acético glacial y 5 gotas de solución de dicromato de potasio (1 en 10): no se produce turbidez dentro de los 2 minutos de preparado (aproximadamente 0,02 %).

Calcio - Someter a ignición 1 g hasta carbonizarlo completamente. Calentar el residuo con una mezcla de 3 ml de ácido nítrico y 10 ml de agua, filtrar, lavar con 5 ml de agua y evaporar el filtrado en un baño de vapor hasta sequedad. Pulverizar el residuo y secar a 120 °C durante 3 horas. Calentar a reflujo el polvo seco con 15 ml de

alcohol absoluto durante 10 minutos, enfriar en hielo y filtrar. Repetir la extracción con 10 ml de alcohol absoluto. Evaporar los filtrados combinados hasta sequedad, agregar 0,5 ml de ácido sulfúrico y someter a ignición: el peso del residuo no es mayor de 10 mg (0,3 % de Ca).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no contiene más de 0,1 mg de Cl (0,01 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 0,001 %.

Hierro <580> - Disolver 1,0 g en 45 ml de agua y agregar 2 ml de ácido clorhídrico: la solución no contiene más de 0,01 mg de Fe (0,001 %).

Sales alcalinas - Disolver 2 g en 80 ml de agua y calentar a ebullición. Agregar un exceso de carbonato de amonio (SR) y calentar a ebullición durante 5 minutos. Diluir con agua a 100 ml y filtrar. Evaporar 50 ml del filtrado y someter a ignición: el residuo, después de corregir por el residuo de ignición a partir de la mitad del volumen del carbonato de amonio (SR) transparente empleada anteriormente, no es mayor de 3 mg (0,3 %).

Nitrato - Disolver 1 g en 10 ml de agua, agregar 0,10 ml de índigo carmín (SR) y luego agregar 10 ml de ácido sulfúrico: el color azul persiste durante 5 minutos (aproximadamente 0,01 % de NO_3).

Acetato de isobutilo - $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_2$ - (PM: 116,2) - Líquido transparente, incoloro. Poco soluble en agua. Miscible con alcohol.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 130 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 30 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 180 °C, manteniéndose esa temperatura durante 10 minutos. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico principal no es menor de 99 % del área total.

Densidad relativa <160> - Entre 0,863 y 0,868.

Índice de refracción - Entre 1,3900 y 1,3920, a 20 °C.

Acetato de isoflupredona - (*Acetato de 9- α -Fluoroprednisolona*) - $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{FO}_6$ - (PM: 420,5) - Polvo blanco a blanco amarillento. Insoluble en agua; fácilmente soluble en piridina; soluble en alcohol y dioxano; poco soluble en cloroformo. Funde aproximadamente a 240 °C, con descomposición.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 4 horas: no pierde más de 1,0 % de su peso.

Acetato de magnesio - $Mg(C_2H_3O_2)_2 \cdot 4H_2O$ - (PM: 214,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetato de mentilo - (*Acetato de 2-isopropil-5-metilciclohexilo*) - $C_{12}H_{22}O_2$ - Líquido incoloro. Miscible con alcohol y éter. Poco soluble.

Índice de refracción <230> - Aprox. 1,447 a 20 °C.

Temperatura de ebullición - Aprox. a 225 °C.

Densidad relativa <160> -. Aprox. 0,92.

Acetato de metilo - $C_3H_6O_2$ - (PM: 74,1) - Líquido incoloro, de olor característico. Soluble en agua. Miscible con alcohol y éter. Densidad relativa: aproximadamente 0,933.

Índice de refracción - Entre 1,3615 y 1,3625, a 20 °C.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 57 y 58 °C.

Acetato de mercurio (II) - $C_4H_6HgO_4$ - (PM: 318,7) - Cristales blancos, fácilmente solubles en agua, solubles en alcohol.

Acetato de plomo - $Pb(C_2H_3O_2)_2 \cdot 3H_2O$ - (PM: 379,4) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetato de potasio - $KC_2H_3O_2$ - (PM: 98,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetato de sodio - $NaC_2H_3O_2 \cdot 3H_2O$ - (PM: 136,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetato de sodio anhidro - $NaC_2H_3O_2$ - (PM: 82,0) - Masa o polvo blanco grisáceo. Es higroscópico. Fácilmente soluble en agua.

Pérdida por secado <680> - Secar a 120 EC hasta peso constante: no pierde más de 3,0 % de su peso.

Neutralidad - Disolver 5 g en 100 ml de agua, enfriar a 10 EC y agregar fenolftaleína (SR). Si se produce un color rosado, desaparece al agregar no más de 0,50 ml de ácido clorhídrico 0,020 N. Si no se produce color rosado, al agregar 0,50 ml de hidróxido de sodio 0,020 N se produce un color rosado (aproximadamente 0,02 % de álcali como Na_2CO_3 o aproximadamente 0,012 % de ácido como CH_3COOH).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,1 mg de Cl (0,01 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 0,0015 %.

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. 1 g no presenta más de 0,2 mg de SO_4 (0,02 %).

Acetato de uranilo - (*Acetato de uranio*) - $UO_2(C_2H_3O_2)_2 \cdot 2H_2O$ - (PM: 424,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetato de vinilo - $CH_3COOCHCH_2$ - (PM: 86,1) - Líquido.

Valoración - Inyectar un volumen apropiado en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m × 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de espesor de goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 100 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 100 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 150 °C. Se emplea helio como gas transportador. La respuesta del pico de $CH_3COOCHCH_2$ no debe ser menor de 99,0 % de la respuesta total.

Acetato mercúrico - $Hg(C_2H_3O_2)_2$ - (PM: 318,7) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetilacetona - (*Pentano-2,4-diona*) - $C_5H_8O_2$ - (PM: 100,1) - Líquido incoloro o amarillento, fácilmente inflamable. Fácilmente soluble en agua; miscible con acetona, alcohol, éter y ácido acético glacial. Densidad relativa: Entre 1,452 y 1,453.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 138 y 140 °C.

Acetona - CH_3COCH_3 - (PM: 58,1) - Emplear *Acetona*.

[NOTA: para determinaciones espectrofotométricas al ultravioleta, emplear acetona grado espectrofotométrico.]

Acetona anhidra - CH_3COCH_3 - (PM: 58,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetonitrilo - (*Cianuro de metilo*) - CH_3CN - (PM: 41,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Acetonitrilo para cromatografía - Emplear un reactivo analítico apropiado que cumpla además con las siguientes especificaciones:

Pureza mínima - 99,9 %.

Transmitancia mínima - Proceder según se indica en 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*. La transmitancia debe ser de 98 % entre 255 y 420 nm, empleando agua como blanco.

Acetonitrilo para espectrofotometría - Emplear un reactivo analítico apropiado, que cumpla también los requisitos del siguiente ensayo.

Pureza espectral - Medir en una celda de 1 cm entre 250 y 280 nm, con un espectrofotómetro

apropiado, empleando aire como blanco: su absorbancia no es mayor a 0,01.

p-Acetotoluidida - $C_9H_{11}NO$ - (PM: 149,2) - Polvo blanco a casi blanco.

Valoración - Inyectar un volumen apropiado en un cromatógrafo de gases (ver 100.Cromatografía) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μ m de espesor de goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 230 y 300 $^{\circ}C$, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 130 $^{\circ}C$ y se programa un ascenso de 10 $^{\circ}C$ por minuto hasta alcanzar 280 $^{\circ}C$. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de $C_9H_{11}NO$ no es menor de 98,5 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 145 y 151 $^{\circ}C$.

Ácido acético - (*Ácido acético 6 N*) - Emplear *Ácido acético*.

Ácido acético diluido - (*Ácido acético 1 N*) - Diluir 60,0 ml de ácido acético glacial con agua hasta obtener 1 litro.

Residuo de evaporación - Evaporar 50 ml en un baño de vapor y secar el residuo a 105 $^{\circ}C$ durante 2 horas: el residuo no pesa más de 1 mg (0,002 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 5 ml no presentan más de 0,01 mg de Cl (2 ppm).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. 10 ml no presentan más de 0,5 mg de SO_4 (50 ppm).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - Evaporar 20 ml en un baño de vapor hasta sequedad. Agregar al residuo 2 ml de ácido, diluir con agua a 25 ml y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): cualquier color pardo producido no es más oscuro que el de un control que contiene 0,04 mg de Pb y 2 ml de ácido acético diluido (2 ppm).

Ácido acético glacial - CH_3COOH - (PM: 60,1) - Contiene no menos de 98,0 % p/p de CH_3COOH .

Densidad relativa <160> - Entre 1,052 y 1,053

Intervalo de destilación <240> - Entre 117 y 119 $^{\circ}C$

Ensayos generales de identificación <410> - Cumple con los requisitos para *Acetato*.

Valoración - Tomar 5,00 g de ácido acético glacial y diluir a 100 ml con agua. Valorar 25 ml de esta solución con hidróxido de sodio 1 N (SV) empleando como indicador 0,5 ml de fenolftaleína (SR).

Sensibilidad - A 20 ml agregar aproximadamente 5 mg de cristal violeta: el color de la solución resultante es púrpura.

Ácido acrílico - $C_3H_4O_2$ - (PM: 72,1) - Líquido incoloro. Miscible con agua, alcohol y éter.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100.Cromatografía) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μ m de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 150 y 300 $^{\circ}C$, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 50 $^{\circ}C$, programando un ascenso de 10 $^{\circ}C$ por minuto hasta alcanzar 200 $^{\circ}C$. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico $C_3H_4O_2$ no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,419 y 1,423, a 20 $^{\circ}C$.

Ácido adípico - $C_6H_{10}O_4$ - (PM: 146,1) - Polvo cristalino incoloro a blanco. Poco soluble en agua y ciclohexano; soluble en alcohol, metanol y acetona; prácticamente insoluble en éter de petróleo.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 0,3g y disolver en 50 ml de alcohol. Agregar 25 ml de agua, mezclar y titular con hidróxido de sodio 0,5 N (SV) hasta alcanzar un pH de 9,5. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,5 N equivale a 36,54 mg de $C_6H_{10}O_4$. Contiene no menos de 98 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 151 y 155 $^{\circ}C$, con un intervalo de fusión no mayor de 2 $^{\circ}C$.

Ácido aminoacético - (*Glicina*) - NH_2CH_2COOH - (PM: 75,1) - Polvo blanco, cristalino. Muy soluble en agua; poco soluble en alcohol.

Compuestos nitrogenados (Ensayo para reactivos) Determinar mediante el método de Kjeldahl, empleando una muestra previamente secada a 105 $^{\circ}C$ durante 2 horas. Contiene entre 18,4 y 18,8 % de N, correspondiente a no menos de 98,5 % de $C_2H_5NO_2$.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 10 g (0,01 %).

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,05 %.

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,1 mg de Cl (0,01 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. 2 g no presentan más de 0,1 mg de SO_4 (0,005 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 0,001 %, emplear 5 ml de ácido clorhídrico 1N para acidificar la solución muestra.

Hierro <580> - 1 g, disuelto en 47 ml de agua con 3 ml de ácido clorhídrico, no contiene más de 0,01mg de Fe (0,001 %).

Ácido p-aminobenzoico - Ver Ácido paraaminobenzoico.

Ácido 4-amino-2-clorobenzoico -(PM: 171,6) - $C_6H_3Cl(NH_2)(COOH)$ - Cristales blancos o polvo blanco cristalino.

Intervalo de fusión <260> - Entre 208 y 212 °C.

Ácido 7-aminodesacetoxicefalosporánico - (PM: 214,2) - $C_8H_{10}N_2O_3S$ - Polvo amarillo brillante.

Impurezas comunes <510> -

Fase móvil - Cloruro de sodio 0,5 N.

Solución estándar - Emplear hidróxido de amonio 1 N como solvente.

Solución muestra - Emplear hidróxido de amonio 1 N como solvente.

Revelador - 1.

Ácido 4-amino-3-hidroxi-1-naftalensulfónico - $C_{10}H_9NO_4S$ - (PM: 239,3) - Polvo color púrpura brillante.

Solubilidad en hidróxido de amonio - Disolver 50 mg en 1 ml de hidróxido de amonio: la solución es de color marrón oscuro.

Punto de fusión <260> - Aprox. 295 °C, con descomposición.

Ácido 1,2,4-aminonaftolsulfónico - $C_{10}H_9NO_4S$ - (PM:239,3) - Polvo blanco a rosado, algo pardusco. Moderadamente soluble en agua.

Sensibilidad - Disolver 100 mg en 50 ml de solución de bisulfito de sodio recientemente preparada (1 en 5), calentando si fuera necesario para favorecer la disolución y filtrar. Agregar 1 ml del filtrado a una solución preparada agregando 2 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 6) y 1 ml de *Reactivo para fosfato A* (ver *Ensayos para reactivos*) a 20 ml de una dilución 1 en 100 de *Solución estándar de fosfato* (ver *Ensayos para reactivos*): se desarrolla un color azul característico a los 5 minutos.

Solubilidad en solución de carbonato de sodio - Disolver 100 mg en 3 ml de carbonato de sodio (SR) y agregar 17 ml de agua: sólo quedan trazas sin disolver.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - A 1 g agregar 0,5 ml de ácido sulfúrico y someter a ignición a 800 ± 25 °C hasta peso constante: el residuo no pesa más de 5 mg (0,5 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. Calentar 500 mg con una mezcla de 25 ml de agua y 2 gotas de ácido clorhídrico en un baño de vapor durante 10 minutos. Enfriar, diluir con agua a 200 ml y filtrar: 20 ml del filtrado no contienen más de 0,25 mg de SO_4 (0,5 %).

Ácido aminopropiónico - (β -Alanina) - $C_3H_7NO_2$ - (PM: 89,1) - Debe contener no menos

de 99,0 % de $C_3H_7NO_2$. Polvo cristalino blanco, fácilmente soluble en agua, poco soluble en alcohol, prácticamente insoluble en acetona y éter.

Punto de fusión <260> - Aprox. 200 °C, con descomposición.

Ácido 3-aminosalicílico - $C_7H_7NO_3$ - (PM: 153,1) - Polvo color gris.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor

Fase móvil - Butanol, agua y ácido acético (60:25:15).

Procedimiento - Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: se observa una sola mancha, con trazas de impurezas.

Punto de fusión <260> - Aprox. 240 °C, con descomposición.

Ácido benzoico - C_6H_5COOH - (PM: 122,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido 4,4'-bis(4-amino-1-naftilazo)-2,2'-estilbenodisulfónico - $C_{34}H_{26}N_6O_6S_2$ - (PM: 678,7) - Emplear uno de grado apropiado.

Ácido bis(2-etilhexil)fosfórico - [*bis*(2-etilhexil)fosfato.] -

$[CH_3(CH_2)_3CH(C_2H_5)CH_2]_2HPO_4$ - (PM: 322,4) - Líquido amarillo brillante, viscoso. Insoluble en agua; fácilmente soluble en cloroformo y acetato de etilo. Índice de refracción: aproximadamente 1,443. Densidad relativa: aproximadamente 0,997.

Valoración - Disolver aproximadamente 250 mg, exactamente pesados, en 50 ml de dimetilformamida, agregar 3 gotas de solución de azul de timol (1 en 100) en dimetilformamida. Titular con metóxido de sodio 0,1 N (SV) hasta punto final azul. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de metóxido de sodio 0,1 N equivale a 32,24 mg de $(C_8H_{17})_2HPO_4$. Contiene entre 95 y 105 %.

Solubilidad - 1 volumen se disuelve en 9 volúmenes de cloroformo para proporcionar una solución transparente y 1 volumen se disuelve en 9 volúmenes de acetato de etilo para proporcionar una solución transparente.

Color - Una solución (1 en 100) en cloroformo presenta una absorbancia no mayor de 0,03, a 420 nm.

Ácido bórico - H_3BO_3 - (PM: 61,8) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido 4-(butilamino)benzoico - $C_{11}H_{15}NO_2$ - (PM: 193,3) - [4740-24-3]. Emplear uno de grado apropiado.

Ácido butírico - $C_4H_8O_2$ - (PM: 88,1) - Líquido transparente, incoloro a débilmente amarillo. Miscible con agua y metanol.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 500 mg, transferir a un recipiente apropiado, agregar 30 ml de agua y mezclar. Agregar 40 ml de agua y mezclar. Agregar fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV). Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 8,81 mg de $C_4H_8O_2$; no debe contener menos de 99,0 % de $C_4H_8O_2$.

Ácido cafeico - (*Ácido (E)-3-(3,4-dihidroxifenil)-2-propenoico*) - $C_9H_8O_4$ - (PM: 180,2) - Cristales o placas blancos o casi blancos, fácilmente solubles en alcohol y agua caliente; solubles en agua fría.

Punto de fusión <260> - Aprox. 225 °C, con descomposición.

Absorción ultravioleta <470> - Una solución de pH 7,6 recientemente preparada presenta dos máximos de absorción a 293 y 329 nm, respectivamente.

Ácido calconacarboxílico - (*Ácido 2-hidroxi-1-(2-hidroxi-4-sulfo-1-naftilazo)-3-naftalenocarboxílico*) - $C_{21}H_{14}N_2O_7S \cdot 3H_2O$ - (PM: 492,5) - Polvo pardo negruzco. Moderadamente soluble en soluciones diluidas de hidróxido de sodio; poco soluble en agua; muy poco soluble en acetona y alcohol.

Ácido dl-10-canforsulfónico - $C_{10}H_{16}O_4S$ - (PM: 232,3) - Cristales o polvo blanco a casi blanco. Es ópticamente inactivo.

Punto de fusión <260> - Aprox. 199 °C, con descomposición.

Ácido cianoacético - $C_3H_3NO_2$ - (PM: 85,1) - Sólido cristalino con un color entre blanco y amarillo claro. Muy soluble en agua.

Valoración - Disolver aproximadamente 300 mg, exactamente pesados, en 25 ml de agua y 25 ml de alcohol. Titular con hidróxido de sodio (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a $C_3H_3NO_2$. Contiene no menos de 99 %.

Ácido (1,2-ciclohexilendinitrilo)tetraacético - (*trans-1,2-diaminociclohexano-N,N,N',N'-tetraacético*) - $C_{14}H_{22}N_2O_8 \cdot H_2O$ - (PM: 364,4) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido cítrico - Emplear la forma monohidratada de *Ácido Cítrico*.

Ácido cítrico anhidro - $C_6H_8O_7$ - (PM: 192,1) - Emplear Ácido cítrico anhidro de grado apropiado.

Ácido clorhídrico - HCl - (PM: 36,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido clorhídrico diluido (10 %) - Preparar mezclando 226 ml de ácido clorhídrico con agua en cantidad suficiente hasta obtener 1 litro.

Ácido clorhídrico libre de plomo - HCl - (PM: 36,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado que cumpla con los siguientes ensayos.

Emisión atómica <440> -

Ácido nítrico - Someter a destilación sin ebullición ácido nítrico.

Soluciones estándar - Emplear Solución de plomo (0,1 ppm) (SL) y diluir con *ácido nítrico*.

Solución muestra - Evaporar 200 g de la muestra en ensayo en un crisol de cuarzo hasta casi sequedad. Recolectar el residuo con 5 ml de *ácido nítrico* y evaporar hasta sequedad. Recolectar el residuo con 5 ml de *ácido nítrico*.

Procedimiento - Proceder según se indica en *Método 1*, determinando la intensidad de emisión a 220,35 nm. El límite es 20 ppm.

Ácido cloroacético - $C_2H_3ClO_2$ - (PM: 94,5) - Cristales blancos o incoloros, delicuescentes. Muy solubles en agua; solubles en alcohol y éter.

Ácido 2-cloro-4-aminobenzoico - Ver Ácido 4-Amino-2-clorobenzoico.

Ácido 4-clorobenzoico - $C_6H_4ClCOOH$ - (PM: 156,6) - Sólido blanco, cristalino.

Valoración - Disolver aproximadamente 700 mg, exactamente pesados, en una mezcla de 100 ml de alcohol caliente y 50 ml de agua. Titular con hidróxido de sodio 0,5 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,5 N equivale a 78,28 mg de $C_6H_4ClCOOH$. Contiene no menos de 98 %.

Solubilidad - 1 g disuelto en 25 ml de hidróxido de sodio 0,5 N proporciona una solución transparente y completa.

Ácido clorogénico - $C_{16}H_{18}O_9$ - (PM: 354,3) - Polvo blanco o casi blanco. Emplear uno de grado apropiado.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para

cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Alcohol butílico, agua y ácido acético (60:25:15).

Procedimiento - Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm.

Ácido cloroplátinico - $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 517,9) - Emplear Ácido cloroplátinico hexahidrato de grado apropiado.

Ácido 5-cloro salicílico - $\text{C}_7\text{H}_5\text{ClO}_3$ - (PM: 172,6) - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Soluble en metanol.

Punto de fusión <260> - Aprox. a 173 °C.

Ácido cromotrópico - (*Ácido 1,8-Dihidroxi-naftaleno-3,6-disulfónico*) - $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_8\text{S}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 356,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido 2,6-diclorofenilacético - $\text{C}_8\text{H}_6\text{Cl}_2\text{O}_2$ - (PM: 205,0) - Polvo blanco.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un ascenso de 10°C por minuto hasta 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de $\text{C}_8\text{H}_6\text{Cl}_2\text{O}_2$ no es menor de 97 % del área total.

Ácido 2,5-dihidroxibenzoico - $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4$ - (PM: 154,1) - Polvo casi blanco. Fácilmente soluble en alcohol dando una solución transparente de color amarillo muy claro.

Valoración - Disolver aproximadamente 75 mg, exactamente pesados, en 30 ml de metanol. Lentamente agregar 40 ml de agua. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 15,41 mg de $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4$. Contiene no menos de 99 %.

Punto de fusión <260> - Aprox. 207 °C, con descomposición.

Ácido dimercaptosuccínico - (PM: 182,2) - $\text{HO}_2\text{CCH}(\text{SH})\text{CH}(\text{SH})\text{COOH}$ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido esteárico - $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$ - (PM: 284,5) - Cristales duros, blancos o polvo amorfo, blanco.

Fácilmente soluble en cloroformo y éter; soluble en alcohol y éter de petróleo.

Temperatura de solidificación <180> - Entre 67 y 69 °C.

Índice de acidez <480> - Entre 196 y 199.

Índice de iodo <480> - No más de 1.

Índice de saponificación <480> - Entre 197 y 200.

Ácido palmítico - Determinar según se indica en *Valoración de Ácido esteárico*: contiene no más de 5,0 %.

Ácido fluorhídrico - HF - (PM: 20,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido fórmico - HCOOH - (PM: 46,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado, 88 %.

Ácido fórmico anhidro - HCOOH - (PM: 46,0) - Debe contener no menos de 98,0 % de CH_2O_2 . Líquido incoloro, corrosivo, miscible con agua y alcohol.

Densidad relativa <160> - Aprox. 1,22 a 20 °C.

Valoración -

Pesar exactamente una matraz cónico que contenga 10 ml de agua. Agregar 1 ml de ácido fórmico anhidro y pesar nuevamente. Agregar 50 ml de agua y titular con hidróxido de sodio 1 M en presencia de 0,5 ml de fenoftaleína (SR1). Cada ml de hidróxido de sodio 1 M consumido equivale a 46,03 mg de CH_2O_2 .

Ácido fórmico, 96 % - HCOOH - (PM: 46,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado, 96 %.

Ácido fosfomolibdico - (PM: 3.939,5) - Aproximadamente $20\text{MoO}_3 \cdot \text{P}_2\text{O}_5 \cdot 51\text{H}_2\text{O}$ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido fosfórico - H_3PO_4 - (PM: 98,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido fosfórico diluido - Ácido fosfórico al 10 %.

Ácido fosforoso - H_3PO_3 - (PM: 82,0) - Masa cristalina blanca muy higroscópica y delicuescente; se oxida lentamente por el oxígeno (aire) a H_3PO_4 . Cristales ortorrómbicos inestables, solubles en alcohol, agua y una mezcla de éter y alcohol (3:1).

Densidad relativa <160> - Aprox. 1,654.

Punto de fusión <260> - Aprox. 73 °C.

Ácido fosfotúngstico - (PM: 6.624,9) - Aproximadamente $24\text{WO}_3 \cdot \text{P}_2\text{O}_5 \cdot 51\text{H}_2\text{O}$ - Cristales verdes, blancos o amarillentos o polvo cristalino. Soluble en agua, alcohol y éter.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 5 g (0,02 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,3 mg de Cl (0,03 %).

Nitrato - Disolver 500 mg en 10 ml de agua y agregar aproximadamente 10 mg de cloruro de sodio, 0,1 ml de índigo carmín (SR) y 10 ml de ácido sulfúrico: el color azul no desaparece dentro de 1 minuto (aproximadamente 0,01 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. 500mg no presentan más de 0,1 mg de SO₄ (0,02 %).

Ácido ftálico - C₈H₆O₄ - (PM: 166,1) - Polvo cristalino entre incoloro y blanco. Soluble en alcohol y metanol; poco soluble en agua; prácticamente insoluble en cloroformo.

Valoración - Transferir aproximadamente 2,8 g, exactamente pesados, a un erlenmeyer de 250 ml, y agregar 50,0 ml de hidróxido de sodio 1 N (SV). Agregar 25 ml de agua y calentar en una placa calefactora hasta que la disolución se complete. Agregar fenoltaleína (SR) y titular el hidróxido de sodio en exceso con ácido sulfúrico 1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 1 N equivale a 83,06 mg de C₈H₆O₄. Contiene no menos de 98 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 205 y 209 °C, con descomposición, empleando un tubo capilar cerrado.

Ácido gálico - C₆H₂(OH)₃COOH · H₂O - (PM: 188,1) - Cristales o polvo blanco, o casi blanco. Moderadamente soluble en agua fría; muy soluble en agua hirviendo y alcohol.

Distinción con ácido tánico - Su solución fría, saturada, no colorea ni precipita soluciones de sales ferrosas puras y no proporciona precipitado con gelatina (SR).

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - 10 g, disuelta en 300 ml de agua caliente, presentan no más de 1 mg de materia insoluble (0,01 %).

Residuo de ignición - Incinerar 10 g, enfriar, agregar 1 ml de ácido sulfúrico e incinerar nuevamente: el residuo no pesa más de 1 mg (0,01 %).

Sulfato - Disolver 2 g en 50 ml de agua caliente, enfriar en agua con hielo mientras se agita y filtrar. Diluir el filtrado a 50 ml y a 25 ml del filtrado agregar 1 ml de ácido clorhídrico 1 N y 2 ml de cloruro de bario (SR). La turbidez producida en 10 minutos no excede la de un estándar que contiene 0,05 mg de sulfato (SO₄), 1 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 12) y 2 ml de cloruro de bario (SR) (0,005 %).

Ácido glicirrónico - (*Ácido glicirretínico*; *Ácido glicirrético*; *Ácido 12,13-Dideshidro-3β-hidroxi-11-oxo-30-oleanoico*) - C₃₀H₄₆O₄ - (PM: 470,7) - Mezcla de Ácido

α-glicirrónico y *Ácido β-glicirrónico* con predominio del isómero β. Polvo blanco a pardo amarillento; soluble en ácido acético glacial y alcohol, prácticamente insoluble en agua.

Rotación específica <170> - Entre +145° y +155°, determinado sobre una solución de 10,0 g por litro en alcohol.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en placa delgada (ver *100. Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia con 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo y metanol (95:5).

Revelador - Anisaldehído (SR1).

Solución muestra - Ácido glicirrónico 5 g por litro en una mezcla de cloroformo y metanol (1:1).

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 5 ml de la *Solución muestra*. Desarrollar el cromatograma hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente la mitad de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, dejar secar y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm: el cromatograma debe presentar una mancha oscura con un valor de *R_f* de aproximadamente 0,3 correspondiente al ácido β-glicirrónico y una mancha más pequeña con un valor de *R_f* de aproximadamente 0,5 correspondiente al ácido α-glicirrónico. Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar entre 100 y 105 °C durante de 10 minutos: las dos manchas deben producir coloración violeta. Puede aparecer entre ambas una mancha más pequeña con la misma coloración.

Ácido D-glucónico, 50 % en agua - C₆H₁₂O₇ - (PM: 196,2) - Líquido amarillo pálido.

Valoración - Diluir aproximadamente 200 mg de la solución, exactamente pesada, con 30 ml de agua. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 19,62 mg de C₆H₁₂O₇. Contiene no menos de 49,0 %.

Índice de refracción - Entre 1,4160 y 1,4180, a 20 °C.

Rotación específica <170> - Entre +9,9° y +1,9°, determinado sobre la solución tal cual, a 20 °C.

Ácido p-hidroxibenzoico - C₇H₆O₃ - (PM: 138,1) - Cristales blancos.

Valoración - Transferir aproximadamente 700mg, exactamente pesados a un envase apropiado y disolver en 50 ml de acetona. Agregar 100 ml de agua, mezclar y titular con hidróxido de sodio 0,5 N (SV), determinando el punto final

potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,5 N equivale a 69,06 mg de $C_7H_6O_3$. Contiene no menos de 97 %.

Punto de fusión <260> - 216 °C, con un intervalo de fusión de 2 °C.

Ácido 4-hidroxibenzoico isopropil éster - (PM: 180,2) - $HOC_6H_4COOCH(CH_2)_2$ - Emplear uno de grado apropiado.

Intervalo de fusión <260> - Entre 84 y 87 °C.

Ácido 4-hidroxiisoftálico - $C_8H_6O_4$ - (PM: 182,1) Agujas ramificadas incoloras. Fácilmente soluble en alcohol y éter.

Intervalo de fusión <260> - Entre 308 y 310 °C, con descomposición a una temperatura entre 314 y 315 °C.

Ácido hipofosforoso, 50 % - (*Ácido hipofosforoso*) - HPH_2O_2 - (PM: 66,0) - Líquido incoloro a débilmente amarillo. Miscible con agua y alcohol.

Valoración - Pesar exactamente 4 ml, diluir con 25 ml de agua y agregar rojo de metilo (SR). Titular con hidróxido de sodio 1 N (SV). Cada mililitro de hidróxido de sodio 1 N equivale a 66,00 mg de HPH_2O_2 . Contiene no menos de 48 %.

Cloruro - Agregar 0,2 ml a una mezcla de 10 ml de nitrato de plata (SR) y 5 ml de ácido nítrico y calentar hasta que no se generen gases pardos: cualquier residuo blanco insoluble es mínimo.

Fosfato - Diluir 1 ml con agua a 50 ml, alcalinizar con amoníaco (SR), filtrar si se forma un precipitado y agregar al filtrado 5 ml de mezcla de magnesia (SR): no más que un leve precipitado se forma dentro de los 5 minutos.

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. Diluir 1 ml con agua a 50 ml: 20 ml de solución no presentan más de 0,2 mg de SO_4 .

Ácido iodhídrico - HI - (PM: 127,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado (conteniendo no menos de 47,0 % de HI).

Ácido iódico - HIO_3 - (PM: 175,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido lactobiónico - $C_{12}H_{22}O_{12}$ - (PM: 358,3) - Polvo cristalino blanco. Fácilmente soluble en acetona; prácticamente insoluble en alcohol.

Punto de fusión - Aprox. a 115 °C.

Ácido litocólico - $C_{24}H_{40}O_3$ - (PM: 376,6) - Polvo blanco.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100.

Cromatografía) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno, 1,4-dioxano y ácido acético (15,2:4,2:0,6).

Revelador - Ácido sulfúrico y metanol (1:1).

Procedimiento - Pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar a 110 °C durante 20 minutos. Examinar la placa visualmente y bajo luz ultravioleta a 366 nm.

Intervalo de fusión <260> - Entre 184 y 186 °C.

Ácido maleico - $C_4H_4O_4$ - (PM: 116,1) - Polvo blanco, inodoro, cristalino. Fácilmente soluble en agua, alcohol; soluble en éter.

Valoración - Disolver aproximadamente 2 g, exactamente pesados, en 100 ml de agua y titular con hidróxido de sodio 1 N (SV), empleando fenolftaleína (SR) como indicador. Cada mililitro de hidróxido de sodio 1 N equivale a 58,04 mg de $C_4H_4O_4$. Contiene no menos de 99 % de $C_4H_4O_4$, calculado sobre la sustancia seca.

Pérdida por secado - Secar al vacío sobre pentóxido de fósforo durante 2 horas: no pierde más de 1,5 % de su peso.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,1 %.

Ácido metacrílico - Emplear uno de grado apropiado.

Ácido metafosfórico - (*Metafosfato ácido de sodio vítreo*) - HPO_3 - (PM: 80,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido metanosulfónico - CH_3O_3S - (PM: 96,1) - Emplear uno de grado apropiado.

Ácido 5-metoxi-2-metil-3-indolacético - (PM: 219,2) - $C_{12}H_{13}NO_3$ - Polvo casi blanco.

Valoración - Transferir aproximadamente 110 mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados de 100 ml. Agregar 30 ml de metanol y disolver mediante agitación. Agregar 40 ml de agua y mezclar. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 21,92 mg de $C_{12}H_{13}NO_3$. Contiene no menos de 98 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 161 y 168 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 3 °C.

Ácido molibdico - (*Ácido molibdico al 85 %*) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido monocloroacético - $CH_2ClCOOH$ - (PM: 94,5) - Cristales incoloros o blancos, deliquescentes, inodoros en frío. Muy soluble en

agua; soluble en alcohol y éter. Almacenar en envases bien cerrados, en un sitio fresco.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 3 g, transferirlos a un envase apropiado y disolver en 50 ml de agua. Agregar fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 1 N (SV). Cada mililitro de hidróxido de sodio 1 N equivale a 94,50 mg de CH_2ClCOOH . Contiene no menos de 99,0 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 61,0 y 64,0 °C.

Materia insoluble - No más de 1,0 mg, determinado sobre 10 g (0,010 %).

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 5,0 g; el residuo no pesa más de 1,0 mg (0,02 %). [NOTA: retener el residuo.]

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,01 mg de Cl (0,001 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. 1 g no presenta más de 0,2 mg de SO_4 (0,02 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - Ensayar 2,0 g; no más de 0,001 %.

Hierro <580> - Digerir el residuo remanente del ensayo para *Residuo de ignición* con 6 ml de ácido clorhídrico en un baño de vapor hasta disolución completa luego diluir con agua a 150 ml. A 10 ml de la solución agregar 1,5 ml de ácido clorhídrico y diluir con agua a 47 ml: la solución no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,003 %).

Ácido 2-naftalenosulfónico - $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_3\text{S} \cdot \text{H}_2\text{O}$ - (PM: 226,3) - Cristales casi blancos a gris claro. Soluble en agua.

Valoración - Disolver aproximadamente 1 g, exactamente pesado, en 100 ml de agua, agregar fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 22,63 mg de $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_3\text{S} \cdot \text{H}_2\text{O}$. Contiene no menos de 98,0 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 122 y 126 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 2 °C.

Ácido

N-(2-hidroxi)etil)piperazina-N'-2-etanosulfónico
- Ver HEPES.

Ácido nicotínico - Emplear *Niacina*.

Ácido nítrico - HNO_3 - (PM: 63,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido nítrico fumante - (*Ácido nítrico al 90 %*)
- HNO_3 - (PM: 63,0) - Emplear Ácido nítrico al 90 %.

Ácido nítrico diluido - (*Ácido nítrico al 10 %*)
- Diluir 105 ml de ácido nítrico con agua a 1 litro.

Ácido nítrico libre de plomo - Emplear un reactivo analítico apropiado.

A 100 g agregar carbonato de sodio anhidro y evaporar a sequedad. Disolver el residuo en agua, calentando suavemente y diluir a 50 ml con el mismo solvente.

Determinar el contenido de plomo por espectrometría de absorción atómica midiendo la absorbancia a 283,3 nm o 217,0 nm, utilizando una lámpara de cátodo hueco y una llama de acetileno e. No debe contener más de 0,0001 % de plomo.

Ácido nitrilotriacético - $\text{N}(\text{CH}_2\text{COOH})_3$ - (PM: 191,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido nonanoico - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido oxálico - $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 126,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido palmítico - (*Ácido hexanodecanoico*) - $\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$ - (PM: 256,4) - Escamas blancas cristalinas. Fácilmente solubles en alcohol caliente y éter; prácticamente insoluble en agua.

Ácido paraaminobenzoico - (*Ácido p-aminobenzoico*) - $\text{H}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{COOH}$ - (PM: 137,1) - Cristales o polvo cristalino blanco o algo amarillo, inodoro, se decolora por exposición al aire o a la luz. Fácilmente soluble en agua hirviendo, alcohol, soluciones de hidróxidos alcalinos y carbonatos; soluble en glicerina caliente; moderadamente soluble en ácido clorhídrico diluido y éter; poco soluble en cloroformo y agua. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto.

Valoración - Pesar con exactamente 300 mg, previamente secados a 105 °C durante 2 horas y transferir a un vaso de precipitados o cristizador. Agregar 5 ml de ácido clorhídrico y 50 ml de agua y agitar hasta disolución. Enfriar a aproximadamente 15 °C, agregar aproximadamente 25 g de hielo molido. Titular lentamente con nitrito de sodio 0,1 M (SV) hasta que una varilla de vidrio sumergida en la solución de titulación produzca inmediatamente un anillo azul cuando toca un papel de yoduro de almidón. Cuando la titulación se completa, el punto final es reproducible después de que la mezcla se ha dejado reposar durante 1 minuto. Cada mililitro de nitrito de sodio 0,1 M equivale a 13,71 mg de $\text{C}_7\text{H}_7\text{NO}_2$. Contiene no menos de 98,5 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 186 y 189 °C.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 2 horas: no pierde más de 0,2 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,1 %.

Ácido perclórico - (*Ácido perclórico al 70 %*) - HClO_4 - (PM: 100,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado (que contenga entre 70,0 y 72,0 % de HClO_4).

Ácido periódico - H_5IO_6 - (PM: 227,9) - Cristales de color blanco a amarillo pálido. Muy soluble en agua. Experimenta descomposición lenta a ácido iódico.

Valoración - Disolver aproximadamente 120 mg, exactamente pesados, en agua. Agregar 5 ml de ácido clorhídrico y 5 g de ioduro de potasio luego agregar 3 ml de almidón (SR) y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 2,849 mg de H_5IO_6 . Contiene no menos de 99 %.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1,0 mg, determinado sobre 10,0 g (0,01 %).

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 2 mg, determinado sobre 10,0 g, someter a ignición durante 10 minutos (0,02 %). [NOTA: retener para el ensayo de *Metales pesados*.]

Sulfato - Pesar exactamente 1 g, agregar de 10 a 20 mg de carbonato de sodio anhidro y evaporar hasta sequedad tres veces con porciones de 5 ml de ácido clorhídrico. Disolver en 25 ml de agua, agregar 1 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 10) luego agregar 1 ml de cloruro de bario (SR) y comparar la turbidez con la *Solución de sulfato estándar* (ver *Sulfato en Reactivos*). 1 g no presenta más de 0,1 mg de SO_4 (0,01 %).

Otros halógenos - Disolver 1,0 g en 100 ml de agua, agregar 1 ml de ácido fosfórico y 5 ml de peróxido de hidrógeno al 30 % y calentar a ebullición para liberar el iodo. Diluir con agua a 100 ml. A una alícuota de 20 ml, agregar 3 ml de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata (SR). Comparar la turbidez con la de una solución preparada en forma similar con *Solución de cloruro estándar* (ver *Cloruro en Reactivos*) que contenga 0,02 mg de cloruro (0,01 %).

Metales pesados - Al *Residuo de ignición* agregar varias gotas de ácido acético y calentar para disolver. Transferir a un tubo de ensayo y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR). Comparar el color con el de *Solución de plomo estándar* (ver 590. *Límite de metales pesados*) que contenga 0,5 mg de Pb (0,005 %).

Hierro - Disolver 1,0 g en 50 ml de agua, agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 2) y 10 ml de solución de clorhidrato de hidroxilamina (1 en 5) y evaporar hasta sequedad para liberar el

iodo. Disolver el residuo en agua, agregar 2 ml de solución de 1,10-fenantrolina (1 en 1000) y 10 ml de solución de acetato de sodio (1 en 5) y comparar el color con el de una solución que contiene 0,03 mg de hierro, tratado en forma similar (0,003 %).

Ácido pícrico - (2, 4, 6-*Trinitrofenol*; *Trinitrofenol*) - $\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})(\text{NO}_2)_3$ -1,2,4,6 - (PM: 229,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido picrolónico - [3-*Metil-4-nitro-1-(p-nitrofenil)-5-pirazolona*.] - $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_5$ - (PM: 264,2) - Polvo cristalino amarillo a amarillo pardusco. Poco soluble en agua; soluble en alcohol, cloroformo, éter y en soluciones de hidróxidos alcalinos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 115 y 117 °C.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 200 mg.

Sensibilidad - Disolver 25 mg en 10 ml de agua caliente que contenga 0,1 ml de ácido acético glacial y filtrar la solución, si fuera necesario. Disolver 100mg de cloruro de calcio en 250 ml de agua y mezclar. Calentar 1 ml de la solución de cloruro de calcio en un tubo de ensayo a aproximadamente 60 °C luego agregar 1 ml de la solución de ácido picrolónico: se forma un precipitado voluminoso en 5 minutos o menos.

Ácido pirúvico - CH_3COCOOH - (PM: 88,1) - Líquido incoloro a amarillo claro. Miscible con agua, alcohol y éter. Índice de refracción: aproximadamente 1,43, a 20 °C.

Valoración - Transferir 1 g, exactamente pesado, a un envase apropiado y agregar 100 ml de agua. Mezclar, agregar fenoltaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,5 N (SV). Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,5 N equivale a 44,03 mg de CH_3COCOOH . Contiene no menos de 98,5 % de CH_3COCOOH .

Ácido quenodesoxicólico - $\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{O}$ - (PM: 92,6) - Polvo de color blanco o casi blanco.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con una mezcla para cromatografía en fase reversa C18 con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Ácido acético 1 N en metanol y ácido acético 1 N (19:1).

Revelador - Ácido sulfúrico y metanol (1:1).

Procedimiento - Pulverizar sobre la placa con *Revelador*, calentar a 110 EC durante 20 minutos. Examinar visualmente y bajo luz ultravioleta a 366 nm: se observa una sola mancha.

Intervalo de fusión <260> - Entre 165 y 168 °C.

Ácido selenioso - (*Ácido selenoso*) - H_2SeO_3 - (PM: 129,0) - Cristales incoloros o blancos, eflorescentes al aire seco e higroscópicos al aire húmedo. Soluble en agua y alcohol.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 100 mg, transferir a un erlenmeyer con tapón de vidrio y disolver en 50 ml de agua. Agregar 10 ml de solución de yoduro de potasio (3 en 10) y 5 ml de ácido clorhídrico, mezclar, insertar el tapón en el erlenmeyer y dejar reposar durante 10 minutos. Diluir con 50 ml de agua, agregar 3 ml de almidón (SR) y titular con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV) hasta que el color ya no disminuya. Luego titular con iodo 0,1 N (SV) hasta color azul. Restar el volumen de solución de iodo 0,1 N del volumen de tiosulfato de sodio 0,1 N para obtener el volumen de tiosulfato 0,1 N equivalente a ácido selenioso. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 3,225 mg de H_2SeO_3 . Contiene no menos de 93 %.

Materia insoluble - Disolver 1 g en 5 ml de agua: la solución es transparente y no presenta residuo.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 1,0 mg, determinado sobre 10 g (0,01 %).

Selenato y sulfato - Disolver 500 mg en 10 ml de agua y agregar 0,1 ml de ácido clorhídrico y 1 ml de cloruro de bario (SR): no se observa turbidez ni precipitado dentro de los 10 minutos de preparación.

Ácido silícico - $\text{SiO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 60,1-anhidro) - Polvo blanco, amorfo. Insoluble en agua y ácido; soluble en soluciones calientes de álcalis fuertes.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No menos de 80,0 %.

Residuo no volátil con ácido fluorhídrico - Calentar 500 mg con 1 ml de ácido sulfúrico y 10 ml de ácido fluorhídrico en un crisol de platino hasta sequedad y someter a ignición hasta peso constante: el peso del residuo no excede 1,0 mg (0,2 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,05 mg de Cl (0,005 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - Calentar a ebullición 2 g con 20 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 40), filtrar, neutralizar el filtrado con amoníaco (SR) y diluir con agua a 20,0 ml. Una alícuota de 10 ml de la solución no presenta más de 0,1 mg de SO_4 (0,01 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - Calentar a ebullición 2,5 g con 50 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 10) durante 5 minutos,

filtrar mientras esté caliente y evaporar el filtrado en un baño de vapor hasta sequedad. Tomar el residuo en 20 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 500), digerir durante 5 minutos, enfriar, agregar agua para obtener 100 ml y filtrar. Agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR) a 40 ml del filtrado: el color que se produzca no debe ser más oscuro que el producido al agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR) a un control que contenga 0,03 mg de Pb (0,003 %).

Hierro <580> - Agregar a 20 ml del filtrado obtenido en el ensayo de *Metales pesados*, 1 ml de ácido clorhídrico y diluir con agua a 47 ml: la solución no presenta más de 0,015 mg de Fe (0,003 %).

Ácido silicotúngstico, n-hidratado - (*Ácido tungstosilícico*) - $\text{H}_4\text{Si}(\text{W}_3\text{O}_{10})_4 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 2.878,3 - anhidro) - Polvo verde.

Valoración - Disolver aproximadamente 1 g, exactamente pesado, en 25 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 5). Agregar 50 ml de una solución de 5 g de cinconina en ácido clorhídrico diluido (1 en 2). Calentar en un baño de vapor durante aproximadamente 30 minutos. Enfriar, filtrar a través de un crisol previamente pesado y someter a ignición a 800EC hasta peso constante. El peso del residuo multiplicado por 1,047 es igual al peso de ácido silicotúngstico dihidrato en la muestra tomada. Contiene no menos de 98 %.

Ácido sulfámico - HSO_3NH_2 - (PM: 97,1) - Cristales incoloros o blancos. Soluble en agua; poco soluble en alcohol.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 400 mg, previamente secados sobre ácido sulfúrico durante 2 horas y disolver en 30 ml de agua contenida en un erlenmeyer. Agregar fenoltaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV). Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 9,709 mg de HSO_3NH_2 . Contiene no menos de 99,5 %.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 10 g disueltos en 200 ml de agua (0,01 %).

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 5 g: el residuo no pesa más de 0,5 mg (0,01 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,01 mg de Cl (0,001 %).

Metales pesados <590> - Disolver 4 g en 30 ml de agua, neutralizar con agua de amoníaco fuerte frente al papel de tornasol y diluir con agua a 40 ml. Agregar a 30 ml, 2 ml de ácido acético diluido, diluir con agua a 40 ml y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): cualquier color pardo producido no es más oscuro que el de un control que contenga

los restantes 10 ml de solución muestra y 0,02 mg de Pb (0,001%).

Hierro <580> - 2 g, disueltos en 47 ml de agua que contenga 2 ml de ácido clorhídrico, no presentan más de 0,01 mg de Fe (5 ppm).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. Disolver 1 g en 50 ml de agua: 20 ml de solución no presentan más de 0,2 mg de SO₄ (0,05 %).

Ácido sulfanílico - p-NH₂C₆H₄SO₃H · H₂O - (PM: 191,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido sulfosalicílico - (PM: 254,2) - C₆H₃(COOH)(OH)(SO₃H)-1,2,5 · 2H₂O - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido sulfúrico - H₂SO₄ - (PM: 98,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido sulfúrico diluido (10 %) - Agregar con precaución, 57 ml de ácido sulfúrico a aproximadamente 100 ml de agua, enfriar a temperatura ambiente y diluir a 1 litro con agua.

Ácido sulfúrico fluorométrico - Emplear Ácido sulfúrico grado analítico que cumpla con el siguiente ensayo:

Fluorescencia - Empleando un fluorómetro apropiado que posea un filtro de excitación de corte bien definido de 360 nm y un filtro de excitación de corte bien definido de 415 nm, determinar la fluorescencia del ácido sulfúrico en una cubeta previamente lavada con agua seguida de varias porciones del ácido a ensayar: la fluorescencia no excede la de la solución de sulfato de quinina (1 en 1.600.000.000), medida en forma similar.

Ácido sulfuroso - H₂SO₃ - (PM: 82,1) - Una solución de dióxido de azufre en agua. Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido tánico - (*Tanino*) - Escamas brillantes amarillentas a marrón claro o polvo amorfo. Es inodoro o con olor débil, característico. Muy soluble en agua y alcohol; menos soluble en alcohol absoluto. Soluble en acetona; prácticamente insoluble en cloroformo y éter. Almacenar en envases inactivos.

Solubilidad - Una solución de 2 g en 10 ml de agua es transparente o prácticamente transparente.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 1 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,1 %).

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 3 horas: no pierde más de 12 % de su peso.

Dextrina, goma y sustancias resinosas - Disolver 2 g en 10 ml de agua caliente: la solución es transparente o no más que débilmente turbia. Filtrar si fuera necesario y dividir el filtrado en dos

porciones iguales. Agregar a una porción 10 ml de alcohol. Agregar a la otra porción 10 ml de agua: no se produce turbidez en ninguna de las soluciones.

Metales pesados - Agregar al *Residuo de ignición* 1 ml de ácido clorhídrico y 1 ml de ácido nítrico y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Tomar con 1 ml de ácido clorhídrico 1 N y unos pocos ml de agua caliente, diluir con agua a 40 ml y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): cualquier color pardo producido no es más oscuro que el de un control que contenga 0,02 mg de Pb (0,002 %).

Ácido tartárico - H₂C₄H₄O₆ - (PM: 150,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido 2-tiobarbitúrico - C₄H₄N₂O₂S - (PM: 144,6) - Laminillas blancas. Poco soluble en agua.

Punto de fusión <260> - Aprox. 236 °C, con descomposición.

Ácido tioglicólico - HSCH₂COOH - (PM: 92,1) - Líquido incoloro o casi incoloro, teniendo un olor fuerte, desagradable. Miscible con agua. Soluble en alcohol.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,1 %.

Solubilidad - Una solución de 1 ml en 10 ml de agua es transparente e incolora.

Sensibilidad - Mezclar 1 ml con 2 ml de agua de amoníaco fuerte y diluir con agua a 20 ml. Agregar 1 ml de esta solución a una mezcla de 20 ml de agua y 0,1 ml de cloruro férrico (SR) diluido (1 en 100), agregar luego 5 ml de amoníaco (SR): se produce un color rosado característico.

Ácido p-toluenosulfónico - CH₃C₆H₄SO₃H · H₂O (PM: 190,2) - Cristales higroscópicos o polvo cristalino blanco. Soluble en agua, alcohol y éter.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 5 g, secar previamente sobre ácido sulfúrico durante 18 horas y disolver en aproximadamente 250 ml de agua contenida en un erlenmeyer de 500 ml. Agregar 0,15 ml de azul de bromotimol (SR) y titular con hidróxido de sodio 1 N (SV) hasta punto final azul. Cada mililitro de hidróxido de sodio 1 N equivale a 190,2 mg de CH₃C₆H₄SO₃H · H₂O. Contiene no menos de 99 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 104 y 106 °C, cuando la muestra se seca sobre ácido sulfúrico durante 18 horas.

Pérdida por secado <680> - Secar sobre ácido sulfúrico hasta peso constante: no pierde más de 1 % de su peso.

Solubilidad - Porciones separadas de 200 mg se disuelven completamente en 5 ml de alcohol y en 5 ml de éter, respectivamente.

Residuo de ignición <270> - Inapreciable, determinado sobre 200 mg.

Sulfato libre - Disolver 500 mg en 10 ml de agua y agregar 1 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 20) y 1 ml de cloruro de bario (SR): cualquier turbidez producida dentro de los 10 minutos no excede la de un control que contenga 0,05 mg de SO₄ (0,01 %).

Ácido *p*-toluico - CH₃C₆H₄COOH - (PM: 136,2) - Polvo blanco, cristalino. Moderadamente soluble en agua caliente; muy soluble en alcohol, metanol y éter.

Valoración - Transferir aproximadamente 650 mg, exactamente pesados, a un envase apropiado, disolver en 125 ml de alcohol, agregar 25 ml de agua y mezclar. Titular con hidróxido de sodio 0,5 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,5 N equivale a 68,07 mg de C₈H₈O₂. Contiene no menos de 98 %.

Intervalo de fusión <260> - Aprox. 181 ± 2 °C.

Ácido tricloroacético - CCl₃COOH - (PM: 163,4) Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ácido trifluoroacético - C₂HF₃O₂ - (PM: 114,0) - Líquido incoloro. Miscible con éter, acetona, etanol, tetracloruro de carbono y hexano.

Valoración - Disolver aproximadamente 300 mg, exactamente pesados, en 25 ml de agua y 25 ml de alcohol. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 11,40 mg de C₂HF₃O₂. Contiene no menos de 99 %.

Ácido 2,4,6-trinitrobencenosulfónico - (PM: 347,2) - C₆H₂(NO₂)₃SO₃H · 3H₂O - Cristales de color amarillo pálido a pardo.

Valoración - Disolver aproximadamente 300 mg, exactamente pesados, en una mezcla de 25 ml de agua y 25 ml de alcohol. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando potenciométricamente el punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 29,32 mg de C₆H₂(NO₂)₃SO₃H. Contiene no menos de 98 %.

Ácido valérico - C₅H₁₀O₂ - (PM: 102,1) - Líquido transparente, incoloro.

Valoración - Pesa exactamente alrededor de 500 mg, transferir a un recipiente apropiado, agregar

30 ml de agua y mezclar. Agregar 40 ml de agua y mezclar. Agregar fenoltaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV). Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 10,21 mg de C₅H₁₀O₂: no debe contener menos de 99,0 % de C₅H₁₀O₂.

Acrilamida - (*Propenamida*) - C₃H₅NO - (PM: 71,1) - Polvo cristalino blanco o casi blanco, o escamas incoloras o blancas. Muy solubles en agua y metanol; fácilmente solubles en etanol. Punto de fusión: aproximadamente 84 °C.

Acrilato de etilo - Emplear uno de grado apropiado.

Adamantano - C₁₀H₁₆ - (PM: 136,2) -

Intervalo de fusión <260> - Entre 270 y 271 °C.

Agar - Emplear *Agar*. Cuando se emplea para fines bacteriológicos, debe secarse hasta que el contenido de agua no supere el 20 %.

Agarosa para cromatografía - Constituido por perlas hinchadas con un diámetro de 60 a 140 μm y presentado en forma de suspensión de 40 g por litro en agua. Se emplea para el fraccionamiento, por cromatografía de exclusión, de las proteínas de pesos moleculares relativos de 6 × 10⁴ a 20 × 10⁶ y de los poliósidos de pesos moleculares relativos entre 3 × 10⁴ y 5 × 10⁶.

Agarosa para electroforesis - Polisacárido neutro, lineal, cuyo componente principal procede del agar-agar. Polvo blanco o casi blanco. Muy poco soluble en agua caliente; prácticamente insoluble en agua fría.

Agar de sulfito de bismuto - Emplear uno de grado apropiado.

Agente Humectante No Iónico - Emplear un agente tensioactivo anfótero apropiado.

[NOTA: un grado adecuado está disponible comercialmente como Tritón X-100 u Octoxinol 9].

Agua de bromo - Ver *Bromo (SR)*.

Agua desaireada - Ver *Definiciones: Agua, en Consideraciones generales*.

Agua deuterada - Ver Óxido de deuterio.

Agua de alta pureza - Tiene una conductividad no mayor de 0,15 μS por cm medida con una celda en-línea justo antes de la dispensación determinada a 25 °C. Debe asegurarse que este agua no esté contaminada con cobre o sus productos por ej., cañerías de cobre o recipientes. El agua puede prepararse haciendo pasar el agua destilada a través de un cartucho desionizador relleno con un lecho mixto de resina

granular. Luego se la hace pasar a través de una membrana de éster de celulosa de poro no mayor de $0,45 \mu\text{m}^3$. No se debe emplear tuberías de cobre. Enjuagar las líneas de escape antes de que el agua se dispense dentro de los recipientes de ensayo. Cuando no se puede lograr la conductividad especificada, se debe reemplazar el cartucho desionizador.

Agua de amoníaco fuerte - (*Hidróxido de amonio*) - Emplear Hidróxido de amonio grado reactivo.

Agua grado HPLC - H_2O - (PM: 18,0) - Líquido incoloro.

Características de absorción - Determinar la absorbancia ultravioleta en una celda de 1 cm, empleando agua como blanco. Los máximos de absorbancia son 0,01; 0,01 y 0,005 a 190, 200 y entre 400 y 250 nm, respectivamente.

Residuo de evaporación - Evaporar un volumen, exactamente medido, en un baño de vapor hasta sequedad y secar el residuo a 105°C durante 1 hora: no más de 3 ppm.

Alambre de hierro - Fe - (PA: 55,85) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Albúmina bovina - Polvo blanco a amarillo pardusco pálido. Debe contener no menos de 96 % de proteínas totales.

Agua <120> - No más de 3,0 %, determinada sobre 0,800 g.

Cuando es utilizada para valoración biológica de tetracosactida, debe estar libre de patógenos, de actividad proteolítica y de actividad corticosteróide.

Albúmina humana - Seroalbúmina humana. No debe contener menos de 96 % de albúmina.

Alcohol - $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ - (PM: 46,1) - Emplear *Alcohol*.

Alcohol absoluto - (*Alcohol deshidratado*) - $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ - (PM: 46,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Alcohol 70 % , 80 % y 90 % - Preparar mediante la mezcla de alcohol y agua en las proporciones correspondientes, realizando las mediciones a 25°C .

Las proporciones de alcohol y agua tomadas para preparar las soluciones, en % (v/v) se pueden determinar del siguiente modo.

Calcular la cantidad de agua, en ml, que se va a mezclar con 100 ml de alcohol por la fórmula siguiente:

$$[94,9 (d/C) - 0,8096]100$$

en la cual 94,9 es el % v/v de $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ en alcohol, 0,8096 es la densidad relativa de alcohol al 94,9 %,

d es la densidad relativa de la solución que contiene C % v/v de $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, obtenido a partir de la tabla alcoholimétrica (ver *Determinación de la concentración alcohólica en peso y en volumen de agua, según K. Windisch, en Tablas*) y 100 es el volumen, en ml, de alcohol tomado.

Alcohol amílico - (*Alcohol isoamílico*) - $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{OH}$ (PM: 88,6) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Alcohol ter-amílico - $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{O}$ - (PM: 88,2) - Líquido transparente, incoloro, inflamable, volátil con olor característico. Densidad relativa: aproximadamente 0,81.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 100 y 103°C .

Residuo de evaporación - Evaporar 50 ml (40 g) en un baño de vapor y secar a 105°C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 1,6 mg (0,004 %).

Ácidos y ésteres - Diluir 20 ml con 20 ml de alcohol, agregar 5,0 ml de hidróxido de sodio 0,1 N (SV) y calentar a reflujo suavemente durante 10 minutos. Enfriar, agregar 2 gotas de fenoltaleína (SR) y titular el hidróxido de sodio en exceso con ácido clorhídrico 0,1 N (SV). No se requieren más de 0,75 ml de hidróxido de sodio 0,10 N. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (0,06 % como acetato de amilo).

Aldehídos - Agitar 5 ml con 5 ml de solución de hidróxido de potasio (30 en 100) en una probeta con tapón de vidrio durante 5 minutos y dejar que se separen las fases: no se desarrolla color en cualquiera de las fases.

Alcohol bencílico - $\text{C}_7\text{H}_8\text{O}$ - (PM: 108,1) - Emplear *Alcohol bencílico*.

Alcohol butílico - (*1-Butanol; Alcohol butílico normal*) - $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2\text{OH}$ - (PM: 74,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Alcohol n-butílico - Ver Alcohol butílico.

Alcohol butílico normal - Ver Alcohol butílico.

Alcohol butílico secundario - (*2-Butanol*) - $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ - (PM: 74,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Alcohol butílico terciario - $(\text{CH}_3)_3\text{COH}$ - (PM: 74,1) - Cristales incoloros, tornándose líquido a una temperatura mayor de $25,5^\circ\text{C}$. Tiene un olor semejante al alcanfor. Miscible con agua y solventes orgánicos comunes.

Miscibilidad - Mezclar 5 ml con 15 ml de agua y mezclar otros 5 ml con 15 ml de disulfuro de carbono. Dejar que cada mezcla repose durante

15 minutos: ambas mezclas no son más turbias que un volumen igual del diluyente.

Densidad relativa <160> - No menos de 0,778 y no más de 0,782.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 82,5 y 83,5 °C.

Temperatura de solidificación <180> - No menos de 25 °C.

Residuo de evaporación - Evaporar aproximadamente 20 g, exactamente pesados, en un crisol en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: contiene no más de 0,005 %.

Acidez - Agregar 20 ml a 20 ml de agua previamente neutralizada frente a la fenoltaleína (SR) con hidróxido de sodio 0,02 N, mezclar. Titular con hidróxido de sodio 0,020 N hasta que el color rosado se restaure: se requieren no más de 0,40 ml (aproximadamente 0,003 % como CH₃COOH).

Alcalinidad - Diluir 10 ml con 20 ml de agua y agregar 1 gota de rojo de metilo (SR): si la solución es amarilla, se requiere no más de 0,25 ml de ácido sulfúrico 0,020 N para cambiarla a color rosado (aproximadamente 0,001 % como NH₃).

Alcohol deshidratado - Ver Alcohol absoluto.

Alcohol diluido - Diluir 100 ml de Alcohol con 100 ml de agua.

Alcohol 3,4-dimetoxibencílico - (CH₃O)₂C₆H₃CH₂OH - (PM: 168,2) - Emplear un reactivo analítico de grado apropiado.

Alcohol dodecílico - Ver 1-Dodecanol.

Alcohol etílico - (*Alcohol; Etanol*) - C₂H₅OH - (PM: 46,1) - Ver Alcohol.

Alcohol 2-hidroxibencílico - C₇H₈O₂ - (PM: 124,1) - Escamas casi blancas. Muy soluble en alcohol, cloroformo y éter; soluble en agua.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de 30 m × 0,25 mm, recubierta con una capa de 1 μm de una fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un aumento de 10 °C por minuto hasta alcanzar 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico C₇H₈O₂ no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 83 y 85 °C.

Alcohol isoamílico - Ver Alcohol amílico.

Alcohol isobutílico - (*2-Metil-1-propanol*) - (PM: 74,1) - (CH₃)₂CHCH₂OH - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Alcohol isopropílico - (*2-Propanol*) - (PM: 60,1) - (CH₃)₂CHOH - Emplear un reactivo analítico apropiado.

[NOTA: para valoraciones y ensayos que incluyen espectrofotometría ultravioleta, emplear un reactivo analítico apropiado para espectrofotometría ultravioleta.]

Alcohol isopropílico deshidratado - Emplear Alcohol isopropílico previamente secado agitándolo con un tamiz molecular apropiado capaz de absorber agua y filtrar.

Alcohol libre de aldehído - Disolver 2,5 g de acetato de plomo en 5 ml de agua, agregar la solución a 1 litro de alcohol contenido en una botella con tapón de vidrio y mezclar. Disolver 5 g de hidróxido de potasio en 25 ml de alcohol caliente, enfriar la solución y agregarla lentamente, sin agitar, a la solución alcohólica de acetato de plomo. Luego de 1 hora, agitar la mezcla vigorosamente, dejar que repose durante toda la noche, decantar el líquido transparente y recuperar el alcohol mediante destilación.

Alcohol metílico - Ver Metanol.

Alcohol neutralizado - A una cantidad apropiada de alcohol agregar 2 ó 3 gotas de fenoltaleína (SR) y la cantidad, exacta y suficiente, de hidróxido de sodio 0,1 N ó 0,02 N para producir un color rosado débil. Preparar el alcohol neutralizado antes de emplearlo.

Alcohol 1-nonílico - (*1-Nonanol*) - CH₃(CH₂)₈OH (PM: 144,3) - Líquido incoloro.

Valoración - Emplear un cromatógrafo de gases apropiado equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,83 m × 3,2 mm con fase estacionaria constituida por un compuesto de polietilenglicol al 20 % (p.m.p aproximadamente 15.000 [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido]) sobre soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na₂CO₃ y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido, luego se lava con agua hasta neutralidad, pero no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el inyector, la columna y el detector a aproximadamente 250, 160 y 310 °C, respectivamente. Se emplea helio como gas transportador con un caudal aproximado de

40 ml por minuto. Contiene no menos de 97 % de $C_9H_{20}O$.

Índice de refracción <230> - Entre 1,432 y 1,434, a 20 °C.

Alcohol polivinílico - $(C_2H_4O)_n$ - Polvo blanco. Soluble en agua; insoluble en solventes orgánicos.

pH <250> - Entre 5,0 y 8,0, en una solución (1 en 25).

Pérdida por secado <680> - Secar a 110 °C hasta peso constante: no pierde más de 5 % de su peso.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,75 %.

Alcohol *n*-propílico - (*1-Propanol*) - (PM: 60,1) - $CH_3CH_2CH_2OH$ - Líquido transparente, incoloro con olor a etanol. Miscible con agua y la mayoría de los solventes orgánicos. Densidad relativa: aproximadamente 0,803.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 95 y 98 °C.

Residuo de evaporación - Evaporar 25 ml (20 g) en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 1 mg (0,005 %).

Acidez - Agregar 0,2 ml de fenoltaleína (SR) a 20 ml de agua y titular con hidróxido de sodio 0,1 N hasta leve color rosado que persiste después de agitar. Agregar 10 ml del alcohol y titular con hidróxido de sodio 0,10 N: no se requiere más de 0,20 ml para restaurar el color rosado (aproximadamente 0,015 % como CH_3COOH).

Alcalinidad - Agregar 2 gotas de rojo de metilo (SR) a una solución de 6 ml en 25 ml de agua y titular con ácido sulfúrico 0,02 N: no se requiere más de 0,3 ml para producir color rojo (aproximadamente 0,002 % como NH_3).

Alcohol *ter*butílico - (*2-metil-2-propanol*; *1,1-dimetil etanol*) - $C_4H_{10}O$ - (PM: 74,1) - Líquido transparente o masa cristalina, incolora. Miscible con alcohol y éter. Soluble en agua.

Temperatura de solidificación - Aprox. 25 °C.

Intervalo de destilación - No menos del 95 % destila entre 81 y 83 °C.

Aldehído anísico - (*4-Metoxibenzaldehído*) - $C_8H_8O_2$ - (PM: 136,1) - Líquido oleoso. Miscible con alcohol y con éter. Muy poco soluble en agua.

Punto de ebullición (Ensayo para reactivos) - Aprox. 248 °C.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 30 a 60 m × 0,3 mm recubierta con polietilenglicol de peso molecular aproximadamente 20.000. Mantener el inyector entre 180 y 200 °C y el detector entre 220 y 250 °C. La temperatura de la columna se debe mantener a

60 °C durante 4 minutos y se debe programar un aumento de 2 °C por minuto hasta alcanzar 210 °C y se debe mantener a 210 °C durante 15 °C. Se emplea helio como gas transportador. La respuesta del pico principal no debe ser menor de 99 % de la suma de las respuestas totales.

Aldehído cinámico - (*3-Fenilpropenal*; *Cinamaldehído*) - C_9H_8O - (PM: 132,1) - Líquido oleoso de color amarillo o amarillo verdoso; muy soluble en alcohol y éter, poco soluble en agua. Proteger de la luz y el calor excesivo.

Densidad relativa <140> - Entre 1,048 y 1,051.

Índice de refracción <230> - Aprox. 1,620.

Aldehído deshidrogenasa - Emplear uno de grado apropiado.

Aptitud - Cuando se emplea para detectar acetaldehído, determinar si se obtiene un gráfico de absorbancia en función de la concentración de pendiente apropiada mediante el empleo de reactivo acetaldehídico, siendo la absorbancia del blanco de reactivos no mayor a 0,01.

Algodón absorbente - Emplear *Algodón purificado*.

Alizarinsulfonato sódico - (*Alizarina roja S*; *Alizarina sódica monosulfonato*) - $C_{14}H_7NaO_7S \cdot H_2O$ - (PM: 360,3) - Polvo amarillo pardo o amarillo anaranjado. Fácilmente soluble en agua, proporcionando una solución de color amarillo; moderadamente soluble en alcohol.

Sensibilidad - Agregar 3 gotas de una solución (1 en 100) a 100 ml de agua y agregar 0,25 ml de hidróxido de sodio 0,02 N: se produce un color rojo. Agregar 0,25 ml de ácido clorhídrico 0,02 N: retorna el color amarillo original.

Almidón de papa - Es el almidón separado de los tubérculos de *Solanum tuberosum* Linneo (Fam. Solanaceae). Polvo más o menos finamente granular, que cuando se examina al microscopio consiste en granos de almidón de forma y apariencia característica.

Almidón soluble (para iodimetría) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Almidón soluble purificado - Polvo blanco, amorfo; al examinar al microscopio presenta la forma característica del almidón de papa. Soluble en agua caliente; poco soluble en alcohol.

Solución muestra para determinación de pH y sensibilidad - Agitar 2,0 g en 10 ml de agua, agregar agua a ebullición hasta completar 100 ml y llevar a ebullición durante 2 minutos. La solución caliente es casi transparente. Enfriar, la solución puede tornarse opalescente o turbia, pero no se

transforma en gel. Emplear esta solución como la *Solución muestra*.

pH <250> - El pH de la *Solución muestra* está entre 6,0 y 7,5.

Sensibilidad - Mezclar 2,5 ml de la *Solución muestra*, 97,5 ml de agua y 0,50 ml de iodo 0,010 N: se produce un color azul característico que desaparece con el agregado de 0,50 ml de tiosulfato de sodio 0,010 N.

Absorbancia - Preparar una solución reguladora de pH 5,3 disolviendo 43,5 g de acetato de sodio (trihidratado) y 4,5 ml de ácido acético glacial en agua, transferir la solución resultante a un matraz aforado de 250 ml, y completar con agua a volumen y mezclar. Disolver 1,00 g de *Almidón soluble purificado* en 2,5 ml de la solución reguladora por calentamiento, transferir a un matraz aforado de 100 ml, completar con agua a volumen y mezclar. Agregar 0,50 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml que contenga aproximadamente 75 ml de agua, 1 ml de ácido clorhídrico 1N y 1,5 ml de iodo 0,020 N, agitando por rotación el matraz durante el agregado. Completar con agua a volumen, mezclar y dejar reposar en la oscuridad durante 1 hora. La absorbancia de esta solución, medida a 575 nm en una celda de 1 cm contra un blanco, está entre 0,5 y 0,6.

Sustancias reductoras - Agitar 10,0 g con 100 ml de agua durante 15 minutos y dejar reposar aproximadamente 12 horas. Filtrar una porción de la solución sobrenadante a través de un vidrio fino sinterizado. Agregar a 50 ml del filtrado 50 ml de tartrato cúprico alcalino (SR) y calentar a ebullición durante 1 a 2 minutos. Filtrar el óxido cuproso resultante, lavar con agua caliente y luego con alcohol y secar a 105 °C durante 2 horas: no contiene más de 47 mg y corresponde a 0,7 % de azúcares reductores como maltosa.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 2 horas: no pierde más de 10 % de su peso.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,5 %.

Aloína - (*Barbalonina*, *1,8-Dihidroxi-3-hidroximetil-10-β-D-glucopiranosil-10H-9-antracena*) - $C_{21}H_{22}O_9 \cdot H_2O$ - (PM: 436,4) - Polvo cristalino amarillo a amarillo fuerte, o agujas amarillas que se ennegrecen por exposición al aire y a la luz, solubles en acetona, amoníaco y soluciones de hidróxidos alcalinos, bastante solubles en alcohol y agua, muy poco solubles en éter.

Absortividad - Su coeficiente de extinción específica (1%, 1 cm) a 269 nm debe ser 192, a 296 nm debe ser 226 y a 354 nm debe ser 259. [NOTA: preparar las soluciones en metanol y calcular con respecto a la sustancia anhidra.]

Cromatografía -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo, metanol y agua (100:17:13).

Revelador - Disolver 50 g hidróxido de potasio en 1 litro de alcohol al 50 % v/v.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 10 µl de una solución de 2 mg de aloína por ml de alcohol al 70 % v/v. Desarrollar el cromatograma hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente la mitad de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, dejar secar, pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar entre 100 y 105 °C durante 15 minutos. Examinar bajo luz ultravioleta a 365 nm: el cromatograma debe presentar sólo una mancha amarillo pardusca en la parte central.

Alquilfenoxipolietoxietano - Agente tensioactivo no iónico. Emplear uno de grado apropiado.

Alumbre - (*Alumbre de amonio; Sulfato de amonio y aluminio*) - $AlNH_4(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ - (PM: 453,3) - Cristales grandes, incoloros o fragmentos cristalinos o polvo blanco. Fácilmente soluble en agua; muy soluble en agua hirviendo; insoluble en alcohol.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 10 g (0,01 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 2 g no presentan más de 0,02 mg de Cl (0,001 %).

Alcalinos y alcalino térreos - Disolver 2 g en 140 ml de agua, agregar 2 gotas de naranja de metilo (SR) luego agregar amoníaco (SR) en porciones hasta que el color se vuelva amarillo. Calentar a ebullición durante 2 minutos, diluir con agua a 150 ml y filtrar. Evaporar 75 ml del filtrado y someter el residuo a ignición: el residuo no pesa más de 2,5 mg (0,25 %).

Arsénico (Ensayo para reactivos) - La mancha producida por 1 g no excede a la producida por 0,002 mg de As (2 ppm como As).

Metales Pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 0,001 %.

Hierro <580> - Disolver 1,0 g en 40 ml de agua, agregar 4 ml de ácido clorhídrico, mezclar y diluir con agua a 50 ml. Diluir 25 ml de esta solución con agua a 47 ml: la solución no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,002 %).

Alumbre de amonio - Ver Alumbre.

Alumbre de potasio - Emplear *Alumbre de potasio*.

Alúmina - Ver Óxido de aluminio lavado con ácido.

Alúmina anhidra - (*Óxido de aluminio; Alúmina especialmente preparada para uso en análisis cromatográfico*) - Polvo blanco o prácticamente blanco, de 75 a 180 μm . No se ablanda, hincha, o descompone en agua. No está lavada con ácido. Almacenarla en envases bien cerrados.

Alúmina activada - Emplear uno de grado apropiado.

Aluminio - Al - (PA: 26,98) - Emplear un reactivo analítico apropiado, que también cumpla con los requisitos del ensayo se indica a continuación.

Arsénico - Transferir 750 mg a un generador (ver *Arsénico* en *Ensayos parar Reactivos*), omitiendo la torunda de algodón. Agregar 10 ml de agua y 10 ml de solución de hidróxido de sodio (3 en 10) y dejar que la reacción proceda durante 30 minutos: una mancha apenas perceptible se produce en el papel de bromuro mercuríco.

Amalgama de cinc - Agregar 54 g de cinc granular o en granallas a 100 ml de mercurio en un vaso de precipitados. Calentar, con agitación, en una placa calefactora bajo una campana extractora [*Precaución - Los vapores de mercurio son sumamente tóxicos*] hasta que el cinc se disuelva totalmente o prácticamente todo. Dejar enfriar a temperatura ambiente y, si fuera necesario, agregar mercurio suficiente para impedir la solidificación de la amalgama. Transferir la amalgama a una botella con tapón de vidrio y agitar unas pocas veces con ácido clorhídrico diluido (1 en 2), para remover el óxido de cinc formado.

Amarillo de tiazol - $\text{C}_{28}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{Na}_2\text{O}_6\text{S}_4$ - (PM: 695,7) - Polvo pardo amarillento. Soluble en agua y alcohol para proporcionar en cada caso una solución amarilla; soluble en álcali diluido para proporcionar una solución roja pardusca. Almacenar en envases inactivos.

Solubilidad - 200 mg mezclados con 50 ml de agua no presentan más que una ligera turbidez.

Residuo de ignición - Pesar exactamente alrededor de 1,5 g, previamente secados a 105 °C durante 2 horas, y someter a ignición hasta carbonización completa. Enfriar, agregar 2 ml de ácido nítrico y 2 ml de ácido sulfúrico, someter a ignición suavemente para liberar el exceso de ácido, luego de 600 a 800 °C hasta peso constante: el residuo de sulfato de sodio (Na_2SO_4) está entre 19,8 y 21,5 % del peso de la muestra (el teórico es 20,4 %).

Sensibilidad al magnesio - Agregar 0,2 ml de una solución (1 en 10.000) y 2 ml de hidróxido de sodio 1 N a una mezcla de 9,5 ml de agua y 0,5 ml de una solución preparada al disolver 1,014 g de cristales transparentes de sulfato de magnesio en agua, diluir con agua a 100 ml luego diluir 10 ml de la solución resultante con agua a 1 litro: se produce un color rosado característico dentro de los 10 minutos de preparación.

α -Amilasa - Emplear uno de grado apropiado.

4-Aminoantipirina - $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}$ - (PM: 203,3) - Polvo cristalino amarillo brillante. 500 mg se disuelven completamente en 30 ml de agua, proporcionando una solución transparente.

Intervalo de fusión <260> - Entre 108 y 110 °C.

4-Aminobenzoato de metilo - $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_2$ - (PM: 151,2) - Polvo casi blanco.

Valoración - Disolver aproximadamente 38 mg, exactamente pesados, en 50 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 15,12 mg de $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_2$. Contiene no menos de 99,0 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 108 y 110 °C.

2-Aminobutanol - Líquido oleoso, miscible con agua; soluble en alcohol.

Densidad relativa <160> - Aproximadamente 0,94, a 20 °C.

Índice de refracción <230> - Aproximadamente 1,453, a 20 °C.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 178 y 182 °C.

4-Amino-6-cloro-1,3-bencenodisulfonamida - $\text{C}_6\text{H}_8\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S}_2$ - (PM: 285,7) - Polvo blanco, inodoro. Insoluble en agua y cloroformo; soluble en amoníaco (SR).

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 2 mg, determinado sobre 2 g (0,1 %).

Absorbancia - Una solución (1 en 200.000) en metanol presenta máximos de absorbancia a aproximadamente 223, 265 y 312 nm. Su absorptividad (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) a 265 nm es aproximadamente 64,0.

Aminoclorobenzofenona - (*2-Amino-5-clorobenzofenona*) - $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{ClNO}$ - (PM: 231,7) - Polvo cristalino amarillo; fácilmente soluble en agua, soluble en alcohol, prácticamente insoluble.

Intervalo de fusión <260> - Aproximadamente 97 °C.

2-Aminoetildifenilborinato - $C_{14}H_{16}BNO$
(PM: 225,09) Polvo cristalino blanco. Emplear uno de grado apropiado.

1-(2-Aminoetil)piperazina - $C_6H_{15}N_3$ -
(PM: 129,2) - Líquido viscoso, incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 280 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 180 °C, se programa un ascenso de 10 °C por minuto y se mantiene a esa temperatura durante 10 minutos. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico principal no es menor de 97 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,4978 y 1,5010, a 20 °C.

2-Aminofenol - C_6H_7NO - (PM: 129,2) -
Polvo color casi blanco.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 0,25 mm \times 30 m recubierta con una capa de 1 μ m de goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 280 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 130 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar los 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de C_6H_7NO no es menor de 97 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 174 y 177 °C.

m-Aminofenol - C_6H_7NO - (PM: 109,1) -
Escamas de color crema a amarillo pálido. Moderadamente soluble en agua fría; fácilmente soluble en agua caliente, alcohol y éter.

Valoración - Disolver aproximadamente 1,5 g, exactamente pesados, en 400 ml de agua en un matraz aforado de 500 ml, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 25,0 ml de esta solución a un matraz para iodo, agregar 50,0 ml de bromo 0,1 N (SV), diluir con 50 ml de agua, agregar 5 ml de ácido clorhídrico e insertar el tapón en el matraz de inmediato. Agitar durante 1 minuto, dejar reposar durante 2 minutos y agregar 5 ml de yoduro de potasio (SR) a través del tapón aflojado. Agitar vigorosamente, dejar reposar durante 5 minutos, remover el tapón y lavar éste y el cuello del matraz con 20 ml de agua, agregando el lavado al matraz. Titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. A partir del volumen de tiosulfato

de sodio 0,1 N empleado, calcular el volumen, en ml, de bromo 0,1 N consumido por la muestra. Cada mililitro de bromo 0,1 N equivale a 1,819 mg de C_6H_7NO . Contiene no menos de 99,5 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 121 y 123 °C.

Pérdida por secado <680> - Secar sobre cloruro de calcio durante 4 horas: la pérdida de peso es mínima.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 2 g.

p-Aminofenol - C_6H_7NO - (PM: 109,1) -
Polvo fino, amarillento, cristalino. Poco soluble en agua y alcohol.

Intervalo de fusión <260> - Entre 187 y 189 °C.

N-Aminohexametilenimina -
(*N-Aminohomopiperidina*;

1-Aminohomopiperidina) - $C_6H_{14}N_2$ - (PM: 114,2)
- Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 180 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 80 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 230 °C, manteniéndose a esa temperatura durante 5 minutos. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico principal no es menor de 95 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,4840 y 1,4860, a 20 °C.

Aminonitrobenzofenona -
(*2-Amino-5-nitrobenzofenona*) - $C_{13}H_{10}N_2O_3$ -
Polvo cristalino amarillo; soluble en tetrahidrofurano, poco soluble en metanol, prácticamente insoluble en agua.

Punto de fusión - Aprox. 160 °C.

Absorción ultravioleta - Determinar la absorbancia de una solución al 1 % en metanol en una celda de 1 cm a 233 nm con un espectrofotómetro. El coeficiente de absorción debe estar comprendido entre 690 y 720.

Aminopirazolona - (*4-Amino-1-fenil-2,3-dimetil-3-pirazolin-5-ona*) - $C_{11}H_{13}N_3O$ -
(PM: 203,2) - Polvo o agujas amarillo pálido. Fácilmente soluble en alcohol; moderadamente soluble en agua; poco soluble en éter.

Punto de fusión - Aprox. 108 °C.

Amoníaco - NH_3 - (PM:17,03) - Contiene no menos de 17 % p/v y no más de 18 % p/v de amoníaco gas NH_3 .

Amoníaco concentrado - NH_3 - (PM: 17,03) - La solución concentrada de amoníaco contiene no menos de 25,0 % p/p y no más de 30,0 % p/p de amoníaco.

Amoníaco diluido - Disolver 41 g de amoníaco concentrado y diluir a 100 ml con agua.

Amonio, formiato de - Ver *formiato de amonio*.

Anetol - (*1-Metoxi-4-(1-propenil)benceno*) - $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}$ - (PM: 148,2) - Masa blanca cristalina hasta los 20-21 °C. Líquida por encima de los 23°C. Fácilmente soluble en alcohol, soluble en acetato de etilo y éter de petróleo, prácticamente insoluble en agua.

Índice de refracción <230> - Aprox. 1,56.

Punto de ebullición (Ensayo para reactivos) - Aprox. 230 °C.

Para uso en cromatografía de gases, debe cumplir con el siguiente ensayo.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 a 60 m \times 0,3 mm recubierta con una capa de fase estacionaria constituida por polietilenglicol 20.000. Mantener el inyector a una temperatura comprendida entre 180 y 200 °C, y el detector entre 220 y 250 °C. La temperatura de la columna se debe mantener a 60 °C durante 4 minutos, se programa un ascenso de 2 °C por minuto hasta 210 °C, y mantener a esa temperatura durante 15 minutos. Se emplea helio como gas transportador. La respuesta del pico principal correspondiente a *trans*-anetol con un tiempo de retención aproximadamente 41 minutos no debe ser menor de 99 % de la suma de las respuestas de todos los picos.

Anhídrido acético - $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$ - (PM: 102,1) - Contiene no menos de 97,0 % p/p de $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$. Líquido incoloro y transparente.

Intervalo de ebullición - Entre 136 a 142 °C.

Valoración - En un erlenmeyer con boca esmerilada, disolver 2,00 g de anhídrido acético en 50 ml de hidróxido de sodio 1 M y calentar a reflujo durante 1 hora. Valorar con ácido clorhídrico 1 M, empleando como indicador 0,5 ml de fenolftaleína (SR). Calcular el volumen, en ml, de hidróxido de sodio 1 M empleados para 1 g (n_1).

En un erlenmeyer con boca esmerilada, disolver 2,00 g de anhídrido acético en 20 ml de ciclohexano; dejar enfriar en un baño de agua-hielo y agregar una mezcla enfriada de 10 ml de anilina y 20 ml de ciclohexano. Calentar a reflujo durante 1 hora, agregar 50 ml de una solución de hidróxido de sodio 1 N y agitar vigorosamente. Valorar con

ácido clorhídrico 1 N empleando como indicador 0,5 ml de fenolftaleína (SR). Calcular el volumen, en ml, de hidróxido de sodio 1 N empleados para 1 g (n_2). Calcular el contenido porcentual en $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$ empleando la expresión siguiente:

$$10,2 (n_1 - n_2)$$

Anhídrido ftálico - $\text{C}_8\text{H}_4\text{O}_3$ - (PM: 148,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Anhídrido propiónico - $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_3$ - (PM: 130,1) - Líquido incoloro, de olor acre. Se descompone en agua. Soluble en metanol, alcohol, éter y cloroformo.

Valoración - Pesar exactamente 350 mg en un erlenmeyer previamente pesado, con tapón de vidrio que contenga 50 ml de dimetilformamida previamente neutralizada a punto final de azul de timol con metóxido de sodio 0,1 N en metanol (SV). Titular con metóxido de sodio 0,1 N en metanol (SV) al punto final de azul de timol. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de metóxido de sodio 0,1 N equivale a 13,014 mg de $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_3$. Contiene no menos de 97,0%.

Índice de refracción - Entre 1,4035 y 1,4045, a 20 °C.

Anhídrido trifluoroacético - $(\text{F}_3\text{CCO})_2\text{O}$ - (PM: 210,0) - Líquido incoloro. Hierve entre 40 y 42 °C. Sumamente volátil. Evitar la exposición al aire o a la humedad.

Valoración - Transferir aproximadamente 800 mg, exactamente pesados, a un erlenmeyer con tapón de vidrio que contiene 50 ml de metanol. Agregar 500 mg de fenolftaleína y titular con metóxido de sodio 0,1 N (SV) hasta punto final rosado. Calcular *A* por la fórmula siguiente:

$$V/P$$

en la cual *V* es el volumen, en ml, de metóxido de sodio 0,1 N y *P* es el peso, en mg, de muestra. A un segundo erlenmeyer con tapón de vidrio que contiene 50 ml de una mezcla de dimetilformamida y agua (1:1) transferir 400 mg de muestra, exactamente pesados, agregar 500 mg de fenolftaleína y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) hasta punto final rosado. Calcular *B* por la fórmula siguiente:

$$V^1/P^1$$

en la cual V^1 es el volumen, en ml, de hidróxido de sodio 0,1 N y P^1 es el peso de muestra, en mg. Calcular el porcentaje de $(\text{F}_3\text{CCO})_2\text{O}$ por la fórmula siguiente:

$$2100,3(B - A).$$

Contiene no menos de 97 %. Si $2A$ es mayor que B , calcular el porcentaje de F_3CCOOH por la fórmula siguiente:

$$1140,3(2A - B).$$

Anilina - $C_6H_5NH_2$ - (PM: 93,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Anisaldehído - (*4-Metoxibenzaldehído*) - $C_8H_8O_2$ - (PM: 136,1) - Líquido oleoso, muy poco soluble en agua, miscible con alcohol y éter.

Punto de ebullición (Ensayo para reactivos) - Aprox. 248 °C.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 30 a 60 m × 0,3 mm de diámetro interno recubierta con polietilenglicol 20.000. Mantener la temperatura de la columna a 60 °C durante 4 minutos y programar un ascenso de 2 °C por minuto hasta 210 °C y mantener a esta temperatura durante 15 minutos. Mantener la temperatura del inyector entre 180 y 200 °C, y la del detector entre 220 y 250 °C. Emplear helio como gas transportador. La respuesta del pico principal no debe ser menor de 99,0 % de la suma de las respuestas de todos los picos.

Anisol - $CH_3OC_6H_5$ - (PM: 108,1) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada (aproximadamente 0,5 μ l) en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m recubierta con una fase estacionaria constituida por 50 % de fenilsilicona y 50 % de metilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a 140 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene en 70 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 170 °C. Se emplea nitrógeno como gas transportador. El área del pico de anisol no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Aproximadamente 1,5160, a 20 °C.

Antitrombina-III para el ensayo de antifactor X_a - La antitrombina-III es un inhibidor de proteasa de serina obtenida de plasma bovino, que inhibe el Factor X_a de la enzima y otros factores de coagulación sanguínea. Es una glicoproteína que tiene un peso molecular de 58.000. Por electroforesis en gel (ver 300. *Electroforesis*) la proteína principal de interés constituye no menos de 90 % de la cantidad total de zonas proteicas.

Actividad específica - Una solución que contiene 0,25 mg de equivalente proteico y 0,1 UI de Heparina por ml contiene no menos de 4 UI de

Antitrombina-III por mg de proteína en presencia de heparina.

Ausencia de heparina - A una solución que contenga 1 UI de Antitrombina III por ml, agregar 1 μ l de solución de azul de toluidina: no se detecta heparina. [NOTA: en presencia de heparina el color cambia de azul a púrpura.]

Antraceno - $C_{14}H_{10}$ - (PM: 178,2) - Cristales o laminillas blancas o casi blancas. Se oscurece a la luz solar. Insoluble en agua; moderadamente soluble en alcohol, benceno y cloroformo.

Intervalo de fusión <260> - Entre 215 y 218 °C.

Antrona - $C_{14}H_{10}O$ - (PM: 194,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Apigenina - (*4',5,7-Trihidroxiflavona*) - $C_{15}H_{10}O_5$ - (PM: 270,2) - Polvo ligeramente amarillento; moderadamente soluble en alcohol, prácticamente insoluble en agua.

Punto de fusión <260> - Aprox. 310 °C, con descomposición.

Cromatografía - Proceder según se indica en *Flores de Manzanilla*, aplicando 10 μ l de una solución de 0,25 mg de apigenina por ml de metanol. El cromatograma debe presentar en su tercio central una banda principal de fluorescencia verde amarillenta.

Apigenina-7-glucósido - (*7-O-Glucósido de apigenina*) - $C_{21}H_{20}O_{10}$ - (PM: 432,6) - Polvo ligeramente amarillento; moderadamente soluble en alcohol, prácticamente insoluble en agua.

Intervalo de fusión <260> - Entre 198 y 201 °C.

Cromatografía - Proceder según se indica en *Flores de Manzanilla*, aplicando 10 μ l de una solución de 0,25 mg de apigenina-7-glucósido por ml de metanol. El cromatograma debe presentar en su tercio central una banda principal de fluorescencia amarillenta.

Aprobarbital - $C_{10}H_{14}N_2O_3$ - (PM: 210,2) - Polvo fino cristalino blanco. Poco soluble en agua fría; soluble en alcohol, cloroformo y éter.

Valoración - Disolver aproximadamente 200 mg, previamente secados a 105 °C durante 2 horas y exactamente pesados, en 20 ml de dimetilformamida en un erlenmeyer de 100 ml. Agregar 4 gotas de solución azul de timol (1 en 200 en metanol) y titular con metóxido de litio 0,1 N empleando una bureta de 10 ml, un agitador magnético y una cubierta para el erlenmeyer para proteger la solución del dióxido de carbono atmosférico. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de metóxido de litio 0,1 N equivale a 21,02 mg de $C_{10}H_{14}N_2O_3$. Contiene entre 98,5 y 101,0 % de $C_{10}H_{14}N_2O_3$.

Intervalo de fusión <260> - Entre 140 y 143 °C.

L-Arabinitol - (*L-Arabitol*; 1, 2, 3, 4, 5-*pentanopentol*) - $C_4H_{12}O_5$ - (PM: 152,2) - Cristales blancos o polvo cristalino. Estable en el aire. Fácilmente soluble en agua proporcionando una solución transparente, incolora. Almacenar en sitio fresco o a temperatura ambiente en un área seca.

Intervalo de fusión <260> - Entre 102 y 104 °C.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 0,5 %.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,1 %.

Arbutina - (*Arbutosia*; 4-*Hidroxifenil-β-D-glucopiranosido*) - $C_{12}H_{16}O_7$ - (PM: 272,3) - Aguja fina blanca brillante, muy solubles en agua caliente, fácilmente solubles en agua, solubles en alcohol, prácticamente insolubles en éter.

Rotación específica <170> - Aprox. - 64°, determinado sobre una solución de 20 g por litro.

Punto de fusión <260> - Aprox. 200 °C.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia con 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Acetato de etilo, agua y ácido fórmico anhidro (88:6:6).

Revelador 1 - Preparar una solución de 10 g dicloroquinonaclorimida por litro en metanol.

Revelador 2 - Preparar una solución de 20 g de carbonato de sodio anhidro por litro.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa una solución de 2,5 mg de arbutina por ml de metanol. Desarrollar el cromatograma hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, secar entre 105 y 110 °C, pulverizar sobre la placa con *Revelador 1*. Pulverizar sobre la placa con *Revelador 2*: el cromatograma debe presentar sólo una mancha principal.

Para uso en cromatografía de líquidos, debe cumplir con el siguiente ensayo.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un equipo para cromatografía de líquido (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 25 cm × 4,0 mm recubierta con fase estacionaria constituida por octadecilsilano desactivado para bases de 5 μm. El caudal debe ser aproximadamente 1,2 ml por minuto con fase móvil constituida por agua y metanol (90:10). El contenido de arbutina no debe ser menor de 95,0 %, calculado por el procedimiento de normalización.

Arena estándar, 20 a 30 μm - Arena de sílice, compuesta casi completamente de granos naturalmente redondeados prácticamente de cuarzo puro. Con un tamaño de partícula tal que pasa por un tamiz de 850 μm (N° 20) (pasando entre 85 y 100 %) y se retiene por un tamiz de 600 μm (N° 30) (pasando entre 0 y 5 %).

Arena lavada - Puede prepararse del siguiente modo. Digerir arena limpia a temperatura ambiente con una mezcla de 1 parte de ácido clorhídrico y 2 partes de agua (aproximadamente 13 % de HCl) durante varios días o a una temperatura elevada durante varias horas. Recolectar la arena en un filtro y lavar con agua hasta que los lavados sean neutros y proporcionen sólo una leve reacción ante el cloruro y finalmente secar. La arena lavada cumple los siguientes ensayos.

Sustancias solubles en ácido clorhídrico - Digerir 10 g con una mezcla de 10 ml de ácido clorhídrico y 40 ml de agua en un baño de vapor durante 4 horas, reemplazando esporádicamente el agua perdida por evaporación. Filtrar y agregar a 25 ml del filtrado, 5 gotas de ácido sulfúrico, evaporar y someter a ignición hasta peso constante: el residuo no pesa más de 8 mg (0,16 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - Agitar 1 g con 20 ml de agua durante 5 minutos, filtrar y agregar al filtrado 1 ml de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata (SR): cualquier turbidez producida corresponde a no más de 0,03 mg de Cl (0,003 %).

Arginina - Emplear *Arginina*.

Arsenito de sodio - $NaAsO_2$ - (PM: 129,9) - Polvo blanco, cristalino, inodoro. Soluble en agua; poco soluble en alcohol.

Valoración - Transferir aproximadamente 5,5 g, exactamente pesados, a un matraz aforado de 500 ml, disolver en agua, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 25 ml de esta solución a un envase apropiado, agregar 50 ml de agua y 5 g de fosfato dibásico de sodio, agitar por rotación hasta disolver y titular con iodo 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Cada mililitro de iodo 0,1 N equivale a 3,746 mg de As. Contiene entre 57,0 y 60,5 % (equivalente a 98,8 a 104,9 % de $NaAsO_2$).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,10 mg de Cl (0,01 %).

Metales pesados - Disolver 200 mg en 8 ml de ácido clorhídrico diluido (3 en 8) y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Disolver el residuo en 5 ml de ácido clorhídrico diluido (2 en 5) y nuevamente evaporar hasta sequedad. Disolver el residuo en 10 ml de agua y agregar 2 ml de ácido acético diluido y 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR). Ningún color pardo que se produzca debe ser

más oscuro que el de un control que contenga 0,01 mg de Pb (0,005%).

Hierro - Disolver 1 g en 20 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 5) y agregar, gota a gota, un ligero exceso de bromo (SR). Calentar a ebullición la solución para eliminar el exceso de bromo, enfriar, diluir con agua a 40 ml y agregar 10 ml de solución de tiocianato de amonio (3 en 10). Ningún color rojo que se produzca debe ser más oscuro que el de un control que contenga 0,02 mg de Fe (0,02 %).

Sulfuro - Disolver 1 g en 20 ml de agua y agregar 5 gotas de acetato de plomo (SR): no se produce ningún color pardo (aproximadamente 0,0005 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método II*. Disolver 5 g en 100 ml de agua, agregar naranja de metilo (SR), neutralizar con ácido clorhídrico 1 N, agregar 3 ml del ácido en exceso y filtrar: el filtrado proporciona no más de 3 mg de residuo (0,02 %).

Aserrín purificado - Puede prepararse del siguiente modo. Extraer aserrín en un percolador, primero con solución de hidróxido de sodio (1 en 100) y luego con ácido clorhídrico diluido (1 en 100) hasta que el percolado ácido no cumpla el ensayo para alcaloides con iodomercuriato de potasio (SR) o con iodo (SR). Luego lavar con agua hasta eliminar el ácido y las sales solubles y secar. El aserrín purificado cumple el siguiente ensayo.

Alcaloides - Agregar a 5 g de aserrín purificado contenido en un erlenmeyer, 10 ml de amoníaco (SR) y 50 ml de una mezcla de éter y cloroformo (2:1) y agitar frecuentemente durante 2 horas. Decantar 20ml del extracto etéreo-clorofórmico transparente y evaporar hasta sequedad. Disolver el residuo en 2 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 12) y dividir en dos porciones. Agregar a una porción iodomercuriato de potasio (SR) y agregar a la otra iodo (SR): no se produce turbidez en ninguna de las porciones.

Asiaticósido -
(2 α ,3 β 23-trihidróxi-4 α -urs-12-en-28-oato-de-O-6-d
esoxi- α -L-manopiranosil-(1 \rightarrow 4)-O- β -D-glucopirano
sil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopiranosilo) - C₄₈H₇₈O₁₉ -
(PM: 959,0) - Polvo blanco, higroscópico, soluble
en metanol, poco soluble en alcohol, insoluble en
acetónitrilo. Proteger de la humedad.

Punto de fusión <260> - Aprox. 232 °C, con descomposición.

Agua <120> - No más de 6,0 %.

Para uso en cromatografía de líquidos, debe cumplir con los requisitos de *Valoración* en *Centella, hierba*. Debe contener no menos de 97,0 %.

L-Asparagina - (Ácido L-2-Aminosuccinámico) - COOHCH(NH₂)CH₂CONH₂ . H₂O - (PM: 150,1) - Cristales incoloros, inodoros. Moderadamente soluble en agua; soluble en ácidos y álcalis; insoluble en alcohol y éter. Sus soluciones neutras o alcalinas son levorrotatorias; sus soluciones ácidas son dextrorrotatorias.

Rotación específica <170> - Entre + 31° y + 33°, determinada en una solución en ácido clorhídrico diluido que contiene el equivalente de 5 g (calculado sobre la sustancia anhidra, secada a 105 °C durante 5 horas) en cada 100 ml.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,1 %.

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más que 0,03 mg de Cl (0,003 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. 1 g no presenta más que 0,05 mg de SO₄ (0,005 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 0,002 %.

Determinación de nitrógeno <200> - *Método II*. Contiene entre 18,4 y 18,8 % de N.

Azida de sodio - NaN₃ - (PM: 65,0) - Polvo cristalino blanco o cristales fácilmente solubles en agua, poco solubles en alcohol, prácticamente insoluble en éter.

Azometino **H** -
(Hidrógeno-4-hidroxi-5-(2-hidroxibencilidenamino)
-2,7-naftalendisulfonato de sodio) - (PM: 445,4) -
C₁₇H₁₂NNaO₈S₂ - Emplear un reactivo analítico
apropiado.

Azufre - Emplear *Azufre precipitado*.

Azul brillante de Coomassie R-250 -
(PM: 826,0) - C₄₅H₄₄N₃O₇S₂Na - Polvo marrón.
(CI 42660).

Azul de anilina - Colorante soluble en agua que consiste en una mezcla de trisulfonatos de trifenilparosnilina y de difenilrosanilina.

Azul de hidroxinaftol - C₂₀H₁₂N₂O₁₁S₃Na₂ -
(PM: 598,50) - Emplear un reactivo analítico
apropiado.

Azul de metileno - C₁₆H₁₈ClN₃S . 3H₂O -
(PM: 373,9) - Cristales verde oscuro o polvo
cristalino, con brillo de color bronce. Soluble en
agua y cloroformo; moderadamente soluble en
alcohol.

Relación de absortividad - La relación entre la absortividad (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) a 635 y 665 nm, medidas en una solución diluida del colorante en alcohol diluido, está comprendida entre 0,56 y 0,62.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 10 mg (1 %).

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 18 horas: no pierde más de 15,0 % de su peso.

Azul sulfán - *[[[4-(Dietil-amino)fenil](2,4-disulfonato fenil)metilén]-2,5-ciclohexadien-1-ilideno]dietilamonio de sodio.*

$C_{27}H_{31}N_2NaO_6S_2$ - Polvo malva o púrpura, soluble en agua. Las soluciones diluidas del azul sulfán son azules y viran al amarillo por adición de ácido clorhídrico concentrado.

Azul de tetrazolio - *(3,3'-(3,3'-Dimetoxi[1,1'-bifenil]-4,4'-diil)bis[2,5-difenil-2H-tetrazolio]dicloruro)* - $C_{40}H_{32}Cl_2N_8O_2$ - (PM: 727,7) - Cristales amarillo limón. Poco soluble en agua; fácilmente soluble en cloroformo y metanol; insoluble en acetona y éter.

Solubilidad en metanol - Disolver 1 g en 100 ml de metanol: se disuelve completamente proporcionando una solución clara.

Color - Transferir una porción de la solución de metanol obtenida en el ensayo anterior a una celda de 1 cm y determinar su absorbancia a 525 nm, empleando agua como blanco: la absorbancia no excede 0,20.

Absortividad molar <470> - Su absortividad molar en metanol, a 252 nm, no es menor a 50.000.

Ensayo de aptitud -

Solución estándar - Disolver en alcohol una cantidad apropiada de Hidrocortisona SR-FA, secada previamente a 105 °C durante 3 horas y

exactamente pesada y preparar mediante dilución en etapas una solución que contenga aproximadamente 10 µg por ml.

Procedimiento - Transferir porciones de 10, 15 y 20 ml de *Solución estándar* a erlenmeyer separados, con tapón de vidrio, de 50 ml. Agregar 10 ml y 5 ml, respectivamente, de alcohol a los erlenmeyer que contienen 10 y 15 ml de *Solución estándar* y agitar por rotación para mezclar. A cada uno de los erlenmeyer y a un cuarto que contiene 20 ml de alcohol, agregar 2,0 ml de una solución preparada disolviendo 50 mg de azul de tetrazolio en 10 ml de alcohol, mezclar y luego agregar 2,0 ml de una solución preparada al diluir 1 ml de hidróxido tetrametilamonio (SR) con alcohol a 10 ml. Mezclar, dejar los erlenmeyer en la oscuridad durante 90 minutos y determinar las absorbancias de las tres *Soluciones estándar* a 525 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando la solución del cuarto erlenmeyer como blanco. Graficar las absorbancias en la abscisa y la cantidad de hidrocortisona en la ordenada sobre papel milimetrado y trazar la curva que mejor se ajuste: la absorbancia de cada solución es proporcional a la concentración y la absorbancia de la solución que contiene 200 µg de hidrocortisona no es menor de 0,50.

Azul de toluidina - *(Cloruro de 3-amino-7-dime-tilamino-2-metil-5-fenotiazinio)* - $C_{15}H_{16}ClN_3S$ - (PM: 305,8) - Polvo verde oscuro. Soluble en agua; poco soluble en alcohol (CI 52040).

B

Barbaloína - (1,8-Dihidroxi-3-hidroximetil-10- β -gluco-piranosil-10H-9-antracena) - (PM: 436,4) - $C_{21}H_{22}O_9 \cdot H_2O$ - Emplear uno de grado apropiado.

Barbital sódico - $C_8H_{11}N_2NaO_3$ - (PM: 206,2) - Polvo cristalino blanco o cristales incoloros, fácilmente soluble en agua, poco soluble en alcohol, prácticamente insoluble en éter. Debe contener no menos de 98 % de la sal de sodio de la 5,5-dietil-1H,3H,5H-piridina-2,4,6-triona.

Benceno - C_6H_6 - (PM: 78,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Bencenosulfonamida - $C_6H_5SO_2NH_2$ - (PM: 157,2) - Cristales blancos a marrón claro.
Intervalo de fusión <260> - Entre 150 y 153 °C.

Bencenosulfonilo, cloruro de - $C_6H_5SO_2Cl$ - (PM: 176,6) - Líquido oleoso, incoloro. Soluble en alcohol y éter; insoluble en agua fría. Solidifica a 0 °C.

Intervalo de fusión <260> - Entre 14 y 17 °C.
Intervalo de ebullición - Entre 251 y 252 °C.

Bencílico, alcohol - Ver *Alcohol bencílico*.

1-Bencilimidazol - $C_{10}H_{10}N_2$ - (PM: 158,2) - Cristales blancos.

Valoración - Transferir aproximadamente 40 mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados de 100 ml. Disolver en 50 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente empleando un electrodo combinado de calomel-platino. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 15,82 mg de $C_{10}H_{10}N_2$. Contiene no menos de 99 %.

Bencina de petróleo - Ver Éter de petróleo.

Benzaldehído - C_7H_6O - (PM: 106,1) - Líquido incoloro, fuertemente refractivo, tiene un olor que se asemeja al de aceite de almendras amargas. Soluble en agua; miscible con alcohol, éter y aceites fijos y volátiles.

Solución alcohólica de clorhidrato de hidroxilamina - Disolver 34,7 g de clorhidrato de hidroxilamina en 160 ml de agua. Agregar alcohol hasta obtener 1 litro y neutralizar frente al azul de bromofenol mediante el agregado de hidróxido de sodio (SR).

Valoración - Transferir aproximadamente 1 ml a un pesafiltro previamente pesado, con tapa de

vidrio y pesar con exactitud. Aflojar la tapa y transferir el pesafiltro y su contenido a un erlenmeyer de 250 ml que contiene 25 ml de *Solución alcohólica de clorhidrato de hidroxilamina*. Empleando una probeta para medir el volumen, lavar las paredes del erlenmeyer con 50 ml adicionales de esta solución. Dejar la solución en reposo durante 10 minutos, agregar 1 ml de azul de bromofenol (SR) y titular el ácido clorhídrico liberado con hidróxido de sodio 1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 1 N consumido equivale a 106,1 mg de C_7H_6O . Contiene no menos de 98 %.

Densidad relativa <160> - Entre 1,041 y 1,046.

Índice de refracción - Entre 1,5440 y 1,5465, a 20 °C.

Ácido cianhídrico - Agitar 0,5 ml con 5 ml de agua, agregar 0,5 ml de hidróxido de sodio (SR) y 0,1 ml de sulfato ferroso (SR) y calentar la mezcla suavemente. Agregar un leve exceso de ácido clorhídrico: no se observa color azul verdoso o precipitado azul dentro de los 15 minutos.

Benzanilida - $C_{13}H_{11}NO$ - (PM: 197,2) - Polvo casi blanco, gris claro a verde grisáceo. Insoluble en agua; moderadamente soluble en alcohol; poco soluble en éter.

Intervalo de fusión <260> - Entre 162 y 165 °C.

Solubilidad en acetona - 1,0 g se disuelve completamente en 50 ml de acetona obteniéndose una solución transparente.

Benzydrol - (α -Fenilbencenometanol) - $C_{13}H_{12}O$ - (PM: 184,2) - Cristales de color blanco a amarillo pálido. Poco soluble en agua; soluble en alcohol, éter y cloroformo.

Intervalo de fusión <260> - Entre 65 y 67 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 2 °C.

Benzoato de bencilo - Ver *Bencilo, Benzoato de*.

Benzoato de butilo - $C_{11}H_{14}O_2$ - (PM: 178,2) - Líquido espeso, aceitoso, incoloro a amarillo pálido. Prácticamente insoluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Valoración - Analizar por cromatografía gas-líquido empleando un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,8 m \times 3 mm con fase estacionaria líquida de 3-cianopropilpolisiloxano sobre soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con

Na_2CO_3 y calcinada a $900\text{ }^\circ\text{C}$ [NOTA: la tierra silíceas se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad, pero no se lava con bases. La tierra silíceas puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector, el detector y la columna a aproximadamente 180 , 280 y $190\text{ }^\circ\text{C}$, respectivamente. Emplear helio como gas transportador. El tiempo de retención es aproximadamente 15 minutos. Presenta una pureza de no menos de 98 %.

Índice de refracción - Entre 1,4980 y 1,5000, a $20\text{ }^\circ\text{C}$.

Benzoato de colesterilo - $\text{C}_{34}\text{H}_{50}\text{O}_2$ - (PM: 490,8)- Emplear uno de grado apropiado.

Benzoato de etilo - $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_2$ - (PM: 150,2) - Líquido transparente, incoloro. Tiene un olor aromático. Prácticamente insoluble en agua; miscible con alcohol, cloroformo y éter.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) empleando una columna de acero inoxidable de $2,4\text{ m} \times 3\text{ mm}$ que contiene una fase estacionaria constituida por un compuesto de polietilenglicol al 20 % (p.m.p aproximadamente 15.000 [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido.]), sobre un soporte constituido por tierra silíceas para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a $900\text{ }^\circ\text{C}$ [NOTA: la tierra silíceas se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad, pero no se lava con bases. La tierra silíceas puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector, la columna y el detector a aproximadamente 180 , 195 y $250\text{ }^\circ\text{C}$, respectivamente. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de benzoato de etilo no es menor de 98 % del área del pico.

Índice de refracción - Entre 1,5048 y 1,5058, a $20\text{ }^\circ\text{C}$.

Benzoato de testosterona - $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{O}_2$ - (PM: 376,5) - Emplear uno de grado apropiado.

Benzofenona - $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{CO}$ - (PM: 182,2) - Polvo blanco, cristalino.

Intervalo de fusión $\langle 260 \rangle$ - Entre 47 y $49\text{ }^\circ\text{C}$.

Benzoina - (2-hidroxi-1,2-difeniletanona) - $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_2$ - (PM: 212,3) - Cristales ligeramente amarillentos. Fácilmente soluble en acetona; soluble en alcohol caliente; moderadamente soluble en éter; muy poco soluble en agua.

Punto de fusión - Aprox. $137\text{ }^\circ\text{C}$.

p-Benzoquinona - $\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_2$ - (PM: 108,1) - Polvo amarillo oscuro con un tono verdoso. Poco soluble en agua; soluble en alcohol, éter y soluciones de álcalis fijos. Puede oscurecerse con el tiempo. El material oscurecido puede ser purificado mediante sublimación al vacío.

Intervalo de fusión $\langle 260 \rangle$ - Entre 113 y $115\text{ }^\circ\text{C}$.

Beta-lactamasa - La beta-lactamasa es una enzima producida por una variedad de bacterias se obtiene generalmente a partir de los filtrados de cultivos de una cepa de *Bacillus cereus*. Tiene la propiedad específica de inactivar penicilinas y cefalosporinas al romper el enlace que vincula el nitrógeno de la tiazolidina con el carbono carbonílico adyacente.

Se presenta en la forma de pequeña piezas o gránulos fácilmente pulverizables de color pardo. Fácilmente soluble en agua, formando una solución algo opalescente que es prácticamente neutra frente al papel de tornasol. Precipita de sus soluciones acuosas en presencia de acetona, alcohol y dioxano y se inactiva por contacto con estos solventes. Es inactivada rápidamente por el acetato de etilo y se destruye irreversiblemente a una temperatura de aproximadamente $80\text{ }^\circ\text{C}$.

La beta-lactamasa es analizada por un procedimiento basado en la determinación de la cantidad de penicilina G potásica o penicilina G sódica destruida a pH 7,0 en una solución de concentración tal que la inactivación procede como una reacción de orden cero.

Betanaftol - Ver 2-Naftol.

Bibencilo - (*Dibencilo*) - $\text{C}_{14}\text{H}_{14}$ - (PM: 182,3) - Cristales incoloros. Fácilmente soluble en cloroformo y éter; moderadamente soluble en alcohol; prácticamente insoluble en agua.

Intervalo de fusión $\langle 260 \rangle$ - Entre 53 y $55\text{ }^\circ\text{C}$.

Bicarbonato de aminoguanidina - (PM: 136,1) - $\text{CH}_6\text{N}_4 \cdot \text{H}_2\text{CO}_3$ - Polvo blanco.

Valoración - Disolver aproximadamente 34 mg, exactamente pesados, en 50 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 13,61 mg de $\text{CH}_6\text{N}_4 \cdot \text{H}_2\text{CO}_3$. Contiene no menos de 98,5 % de $\text{CH}_6\text{N}_4 \cdot \text{H}_2\text{CO}_3$.

Punto de fusión $\langle 260 \rangle$ - Aprox. $170\text{ }^\circ\text{C}$, con descomposición.

Bicarbonato de potasio - KHCO_3 - (PM: 100,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Bicarbonato de sodio - NaHCO_3 - (PM: 84,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Bifenilo - $\text{C}_{12}\text{H}_{10}$ - (PM: 154,2) - Cristales incoloros o blancos o polvo cristalino, de olor agradable. Insoluble en agua; soluble en alcohol y éter. Hierve aproximadamente a 254 °C.

Intervalo de fusión <260> - Entre 68 y 72 °C.

Biftalato de potasio - (*Ftalato ácido de potasio; Ácido ftálico monopotásico; Ftalato hidrógeno de potasio, estándar acidimétrico*) - $\text{KHC}_6\text{H}_4(\text{COO})_2$ - (PM: 204,2) - Emplear Ftalato ácido de potasio patrón primario.

2,2'-Bipiridina - (α, α' -*Dipiridilo*) - $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2$ - (PM: 156,2) - Polvo blanco o rosado, cristalino. Soluble en agua y alcohol. Funde aproximadamente a 69 °C y hierve aproximadamente a 272 °C.

Sensibilidad - Preparar las siguientes soluciones: (A) Disolver 350 mg de sulfato ferroso amónico en 50 ml de agua que contiene 1 ml de ácido sulfúrico y agregar 500 mg de sulfato de hidracina luego agregar agua hasta obtener 500 ml. Antes de usar, diluir 1 ml de esta solución a 100 ml con agua. (B) Disolver 8,3 g de acetato de sodio y 12 ml de ácido acético glacial en agua para obtener 100 ml. Agregar 1 ml de la solución muestra diluida (1 en 1.000) a una mezcla de 10 ml de agua y 1 ml de cada una de *Soluciones A y B*: se produce un color rosado de inmediato.

Solubilidad - 100 mg se disuelve completamente en 10 ml de agua.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,2 %.

Bisbenzimidazoles - (*Trihidrocloruro de 4-[5-[5-(4-metilpiperazin-1-il)benzimidazol-2-il]benzimidazol-2-il]fenol pentahidrato*) - $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{Cl}_3\text{N}_6\text{O} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 624,0). Emplear un reactivo analítico apropiado.

3,3-bis(3-ter-butil-4-hidroxifenil)butirato de etileno - $\text{C}_{50}\text{H}_{66}\text{O}_8$ - (PM: 795) - Polvo cristalino, prácticamente insoluble en agua y éter de petróleo; muy soluble en acetona, éter y metanol.

Bismuto, subnitrito de - $[\text{4BiNO}_3(\text{OH})_2, \text{BiO}(\text{OH})]$ - (PM: 1.462) - Polvo blanco, prácticamente insoluble en agua.

2,2'-bis(octadeciloxi)-5,5'-espirobi [1,3,2-dioxa-fosforinano] - $\text{C}_{41}\text{H}_{82}\text{O}_6\text{P}_2$ - (PM: 733) - Sólido céreo blanco. Prácticamente insoluble en agua; soluble en hidrocarburos.

Intervalo de fusión - Entre 40 y 70 °C.

Bis(trimetilsilil)acetamida - (*N,O-Bis(trimetilsilil)acetamida; BSA*) - $\text{CH}_3\text{CON}[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]_2$ - (PM: 203,4) - Líquido

transparente, incoloro. Se hidroliza fácilmente cuando es expuesto al aire húmedo. Manipular bajo atmósfera de nitrógeno y almacenar en un sitio fresco.

Valoración - Emplear un cromatógrafo de gases equipado con un detector de conductividad térmica y una columna de acero inoxidable de 1,83 m × 3 mm conteniendo 5 % de fase estacionaria constituida por aceite de dimetilpolisiloxano sobre soporte de tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad, no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector a aproximadamente 160 °C. La temperatura de la columna se mantiene a 90 °C y se programa un ascenso de 4 °C por minuto hasta 160 °C. Se emplea helio como gas transportador. Contiene no menos de 90 % de $\text{CH}_3\text{CON}[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]_2$. El tiempo de retención es de aproximadamente 15 minutos.

Índice de refracción - Entre 1,4150 y 1,4170, a 20 °C.

Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida - (*BSTFA*) - $\text{CF}_3\text{CON}[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]_2$ - (PM: 257,4) - Líquido transparente, incoloro. Se hidroliza fácilmente cuando se expone al aire húmedo. Almacenar en un sitio fresco.

Valoración - Emplear un cromatógrafo de gases equipado con un detector de conductividad térmica y una columna de acero inoxidable de 1,83 m × 3 mm conteniendo 5 % de fase estacionaria constituida por aceite de dimetilpolisiloxano sobre soporte de tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad, no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector a aproximadamente 170 °C. La temperatura de la columna se mantiene a 90 °C y se programa un ascenso de 4 °C por minuto hasta 140 °C. Se emplea helio como gas transportador. Contiene no menos de 98 % de $\text{CF}_3\text{CON}[\text{Si}(\text{CH}_3)_3]_2$. El tiempo de retención es de aproximadamente 15 minutos.

Índice de refracción - Entre 1,3820 y 1,3860, a 20 °C.

Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida con trimetildiclorosilano - Emplear uno de grado apropiado.

Bisulfato de amonio - NH_4HSO_4 - (PM: 115,1) - Cristales blancos. Fácilmente soluble en agua;

prácticamente insoluble en alcohol, acetona y piridina.

Valoración - Disolver aproximadamente 300 mg, exactamente pesados, en 50 ml de una mezcla de agua y alcohol (25:25). Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 11,51 mg de NH_4HSO_4 . Contiene no menos de 98 %.

Bisulfato de potasio - KHSO_4 - (PM: 136,2) - Masas delicuescentes, blancas fundidas o gránulos. Muy soluble en agua. Cuando se incinera, se generan SO_3 y H_2O , cambiando primero a piro-sulfato de potasio luego a sulfato.

Acidez - Disolver 4 g, exactamente pesados, en 50 ml de agua, agregar fenolftaleína (SR) y titular con álcali 1 N: contiene entre 34 y 36 %, calculado como H_2SO_4 .

Materia insoluble y precipitado de hidróxido de amonio - Disolver 10 g en 100 ml de agua, agregar rojo de metilo (SR), alcalinizar con amoníaco (SR), calentar a ebullición durante 1 minuto y digerir en un baño de vapor durante 1 hora. Filtrar a través de un crisol filtrante previamente pesado, lavar y secar a 105 °C durante 2 horas: el precipitado no pesa más de 1 mg (0,01 %).

Para los siguientes ensayos, preparar una *Solución muestra* del siguiente modo: disolver 6 g en 45 ml de agua, agregar 2 ml de ácido clorhídrico, calentar a ebullición suavemente durante 10 minutos, enfriar y diluir con agua a 60 ml.

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - A 30 ml de *Solución muestra*, agregar fenolftaleína (SR) y neutralizar con amoníaco (SR). Agregar 0,5 ml de ácido acético glacial, diluir con agua a 40 ml y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): cualquier color pardo producido no es más oscuro que el de un control que contiene 10 ml de *Solución muestra* y 0,02 mg de Pb (0,001 %).

Hierro <580> - A 5 ml de *Solución muestra*, agregar 2 ml de ácido clorhídrico y diluir con agua a 47 ml: la solución no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,002 %).

Bisulfato de sodio - Ver *Sulfato ácido de sodio*.

Bisulfato de tetrabutylamonio - (*Sulfato Hidrogenado de Tetrabutylamonio*) - $\text{C}_{16}\text{H}_{37}\text{NO}_4\text{S}$ - (PM: 800) - Polvo cristalino o cristales incoloros. Fácilmente solubles en agua y metanol.

Intervalo de fusión <260> - Entre 169 y 173 °C.

Absorbancia - Preparar una solución de 50 mg de Bisulfato de tetrabutylamonio por ml y medir la

absorbancia entre 240 y 300 nm: no debe ser mayor a 0,05.

Bisulfito de sodio - Emplear *Metabisulfito de sodio*.

Bitartrato de sodio - $\text{NaHC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$ - (PM: 190,1) - Cristales blancos o polvo cristalino. Soluble en agua fría.

Valoración - Disolver aproximadamente 500 mg, exactamente pesados, en 30 ml de agua, agregar fenolftaleína (SR). Titular con hidróxido de sodio 0,1N (SV): cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 19,01 mg de $\text{NaHC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Contiene entre 99 y 100,5 %.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 10 g (0,01 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,2 mg de Cl (0,02 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - Disolver 4 g en 25 ml de agua, agregar 2 gotas de fenolftaleína (SR) y luego agregar amoníaco (SR), gota a gota, hasta que la solución sea algo rosada. Agregar 4 ml de ácido clorhídrico 1 N, diluir con agua a 40 ml y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): ningún color pardo que se produzca debe ser más oscuro que el de un control que contenga 0,04 mg de Pb (0,001%).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. 1 g no presenta más de 0,2 mg de SO_4 (0,02 %).

Boldina

(*1,10-Dimetoxi-6- α -aporfina-2,9-diol*)- $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{NO}_4$ - (PM: 327,1) - Polvo cristalino blanco, soluble en alcohol y soluciones diluidas de ácidos, ligeramente soluble en agua.

Punto de fusión <260> - Aprox. 163 °C.

Rotación específica <170> - Aprox. + 127°, determinado sobre una solución de 1 g por litro en metanol.

Cromatografía -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en placa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía con 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno, dietilamina y metanol (80:10:10).

Revelador 1 - Iodobismutato de potasio (SR2).

Revelador 2 - Preparar una solución de 100 g de nitrato de sodio por litro.

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 10 μl de una solución de 0,4 mg de boldina por ml de metanol. Desarrollar el cromatograma hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, dejar secar, pulverizar sobre la placa con *Revelador 1*. Dejar secar y pulverizar

sobre la placa con *Revelador 2*: el cromatograma debe presentar sólo una mancha principal.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un equipo para cromatografía de líquido (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector ultravioleta ajustado a 304 nm y una columna de 250 cm × 4,6 mm recubierta con fase estacionaria constituida por octadecilsilano de 5 µm. El caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto con fase móvil constituida por una mezcla de 84 volúmenes de una mezcla 99,8 ml de agua y 0,8 ml de dietilamina ajustado a pH 3,0 con ácido fórmico y 16 volúmenes de una solución preparada con 99,8 ml de acetonitrilo y 0,2 ml de dietilamina. La respuesta del pico principal no debe ser menor de 99,0 % de la suma de las respuestas de todos los picos.

Borato de sodio - (*Bórax; Tetraborato de sodio*) - $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 381,4) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Borohidruro de sodio - NaBH_4 - (PM: 37,8) - Sólido blanco, cristalino. Fácilmente soluble en agua; soluble (con reacción) en metanol. Sus soluciones se descomponen rápidamente por calentamiento a ebullición.

Valoración -

Solución de iodato de potasio (0,25 N) - Disolver 8,917 g, previamente secados a 110 °C hasta peso constante y exactamente pesados, en agua para obtener 1 litro.

Procedimiento - Disolver aproximadamente 500 mg, exactamente pesados, en 125 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 25) en un matraz aforado de 250 ml, diluir a volumen con la solución de hidróxido de sodio y mezclar. Transferir 10 ml de la solución a un matraz para iodo de 250 ml, agregar 35,0 ml de *Solución de iodato de potasio* y mezclar. Agregar 2 g de ioduro de potasio, mezclar, agregar 10 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 10), insertar el tapón en el matraz y dejar reposar en la oscuridad durante 3 minutos. Titular la solución con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Calcular la cantidad, en mg, de NaBH_4 en la muestra por la fórmula siguiente:

$$[(35,0)(0,25)] - 0,1V)4,729$$

en la cual *V* es el volumen, en ml, de tiosulfato de sodio 0,1 N empleado en la titulación. Contiene no menos de 98 %.

Bromato de potasio - KBrO_3 - (PM: 167,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Bromo - Br - (PA: 79,90) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

α-Bromo-2-acetonafona - (*Bromometil 2-naftil cetona*) - $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{BrO}$ - (PM: 249,1) - Cristales de color rosado a tostado claro.

Intervalo de fusión <260> - Entre 81 y 83 °C.

p-Bromoanilina - $\text{C}_6\text{H}_6\text{BrN}$ - (PM: 172,0) - Cristales blancos a casi blancos. Insoluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Valoración - Transferir aproximadamente 650 mg, exactamente pesados, a un envase apropiado y disolver en 50 ml de ácido acético glacial (SR). Agregar cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 17,20 mg de $\text{C}_6\text{H}_6\text{BrN}$. Contiene no menos de 98 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 60 y 65 °C, con un intervalo fusión no mayor de 2 °C.

5-Bromo-2'-desoxiuridina - $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{BrN}_2\text{O}_5$ - (PM: 307,1).

Punto de fusión <260> - Aprox. 194 °C.

Cromatografía - Analizar según se indica en *Sustancias relacionadas* para *Idoxiuridina* depositando 5 µl de una solución de 5-iodouracilo de 0,25 mg por ml. El cromatograma sólo presenta una mancha principal.

N-Bromosuccinimida - $\text{C}_4\text{H}_4\text{BrNO}_2$ - (PM: 178,0) - Cristales o polvo de color blanco o casi blanco, de olor débil. Fácilmente soluble en agua, acetona y ácido acético glacial. *Precaución* - Sumamente irritante a los ojos, piel y mucosas.

Valoración - Transferir 200 mg, exactamente pesados, a un erlenmeyer, agregar 25 ml de hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N, cubrir con un vidrio de reloj, calentar a ebullición durante 5 minutos. Enfriar, transferir la solución a un vaso de precipitados, lavar el erlenmeyer con agua hasta que el volumen total de solución más los lavados sea de aproximadamente 100 ml y agregar 10 ml de ácido acético glacial. Insertar electrodos apropiados y titular con nitrato de plata 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 17,80 mg de $\text{C}_4\text{H}_4\text{BrNO}_2$. Contiene no menos de 98 %.

Bromuro de amonio - NH_4Br - (PM: 97,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Bromuro de dimidio
Bromuro de 3,8-diamino-5-metil-6-fenilfenantridinium.

$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{BrN}_3$ - (PM: 380,3) - Cristales negro-rojizos. Levemente soluble en agua a 20 °C; poco soluble en agua a 60 °C y alcohol.

Bromuro de cianógeno - BrCN - (PM: 105,9) - Cristales incoloros. Se volatiliza a temperatura ambiente. Sus vapores son altamente irritantes y muy tóxicos. Funde aproximadamente a 52 °C. Fácilmente soluble en agua y alcohol. Almacenar en envases de cierre perfecto, en un sitio frío.

Solubilidad - Porciones separadas de 1 g se disuelven completamente en 10 ml de agua y en 10 ml de alcohol, respectivamente, produciendo soluciones incoloras.

Bromuro de iodo - IBr - (PM: 206,8) - Cristales negro-azulados o negro-parduscos. Fácilmente soluble en agua, alcohol, éter y ácido acético glacial. Funde aproximadamente a 40 °C. Punto de ebullición: aproximadamente a 116 °C. Conservar en envase inactivo, en un sitio fresco.

Bromuro de p-nitrobencilo - NO₂C₆H₄CH₂Br - (PM: 216,0) - Cristales de color casi blanco a amarillo pálido, se oscurece por exposición a la luz. Prácticamente insoluble en agua; fácilmente soluble en alcohol, éter y ácido acético glacial. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto.

Intervalo de fusión <260> - Entre 98 y 100 °C.

Solubilidad - Porciones separadas de 200 mg proporcionan soluciones transparentes en 5 ml de alcohol y en 5 ml de ácido acético glacial.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 200 mg.

Bromuro de potasio - KBr - (PM: 119,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Bromuro de sodio - NaBr - (PM: 102,9) - Cristales cúbicos o polvo granular blanco, inodoro. Soluble en agua; poco soluble en alcohol.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - La materia insoluble a partir de 20 g, disuelta en 150 ml de agua caliente, no pesa más de 1 mg (0,005 %).

pH <250> - Entre 5,5 y 7,5, determinado en una solución (1 en 20).

Bario - Disolver 6 g en 15 ml de agua, agregar 5 ml de ácido acético, 5 ml de peróxido de hidrógeno al 30 % y 1 ml de ácido clorhídrico y digerir en un vaso de precipitados cubierto hasta que cese la reacción. Retirar la cubierta y evaporar hasta sequedad. Disolver el residuo en 15 ml de agua, filtrar si fuera necesario, diluir con agua a 23 ml y agregar 2 ml de solución de dicromato de potasio (1 en 10). Agregar hidróxido de amonio hasta que se haya disipado el color anaranjado y el color amarillo persista luego agregar 25 ml de metanol, agitar vigorosamente y dejar reposar durante 10 minutos: cualquier turbidez que aparezca no excede la de un control que contenga 1,0 g de muestra y 100 µg de ion bario (0,002 %).

Bromato - Disolver 1 g en 10 ml de agua, agregar 100 µl de solución de yoduro de potasio (1 en 10), 1 ml de almidón (SR) y 25 µl de ácido sulfúrico diluido (1 en 36) y dejar reposar a 25 °C: no se produce color azul ni violeta dentro de los 10 minutos (aproximadamente 0,001 %).

Calcio, magnesio y precipitado de R₂O₃ - Agregar al filtrado del ensayo para *Materia insoluble*, 5 ml de oxalato de amonio (SR), 2 ml de fosfato de amonio (SR) y 10 ml de hidróxido de amonio. Dejar reposar durante aproximadamente 16 horas, filtrar, lavar con amoníaco (SR) diluido (1 en 4), someter a ignición y pesar: el peso del residuo no es mayor de 1 mg (0,005%).

Cloruro - Disolver 500 mg en 15 ml de ácido nítrico diluido (1 en 3) en un erlenmeyer apropiado, agregar 3 ml de peróxido de hidrógeno al 30 % y digerir en un baño de vapor hasta que la solución sea incolora. Lavar las paredes del erlenmeyer con agua, digerir durante un periodo adicional de 15 minutos, enfriar y diluir con agua a 200 ml. Diluir una alícuota de 2 ml con agua a 25 ml y agregar 1 ml de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata (SR): si se produce turbidez no excede la de un control que contenga 10 µg de ion cloruro (0,2 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 0,0005 %.

Hierro <580> - 2 g, disueltos en 47 ml de agua que contenga 2 ml de ácido clorhídrico, no presentan más de 0,01 mg de Fe (5 ppm).

Compuestos nitrogenados (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 5 µg de N (0,0005 %).

Potasio (Ensayo para reactivos) -

Solución de ensayo - Disolver 10 g en agua, diluir con agua a 100 ml y mezclar.

Solución muestra - Diluir 10,0 ml de *Solución de ensayo* con agua a 100 ml y mezclar.

Solución control - Agregar a 10,0 ml de *Solución de ensayo*, 50 µg de ion potasio (K), diluir con agua a 100 ml y mezclar. No más de 0,005 %.

Sulfato - Disolver 10 g en 100 ml de agua, filtrar si fuera necesario y agregar 1 ml de ácido clorhídrico: la solución proporciona no más de 1,2 mg de residuo (0,005 %).

Bromuro de tetrabutilamonio - (C₄H₉)₄NBr - (PM: 322,4) - Polvo cristalino blanco.

Valoración - Disolver aproximadamente 34 mg, exactamente pesados, en 50 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido

perclórico 0,1 N equivale a 32,24 mg de $(C_4H_9)_4NBr$. Contiene no menos de 99 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 103 y 105 °C.

Bromuro de tetraheptilamonio - $(C_7H_{15})_4NBr$ - (PM: 490,7) - Polvo blanco, escamoso.

Intervalo de fusión <260> - Entre 89 y 91 °C.

Bromuro de tetrametilamonio - $(CH_3)_4NBr$ - (PM: 154,1) - Cristales incoloros. Soluble en agua; moderadamente soluble en alcohol absoluto; insoluble en cloroformo y éter.

Valoración - Transferir aproximadamente 400mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados, agregar 50 ml de agua y 10 ml de ácido nítrico diluido, agitar por rotación hasta disolver la muestra, agregar 50,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV) y mezclar. Agregar 2 ml de sulfato férrico amónico (SR) y titular el exceso de nitrato de plata con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N consumido equivale a 15,41 mg de $(CH_3)_4NBr$. Contiene no menos de 98 %.

Bromuro mercúrico - $HgBr_2$ - (PM: 360,4) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

1,3-Butanodiol - (*1,3-Butilenglicol*) - $C_4H_{10}O_2$ - (PM: 90,1) - Líquido viscoso, incoloro. Muy higroscópico. Soluble en agua, alcohol, acetona y metil etil cetona; prácticamente insoluble en hidrocarburos alifáticos y tolueno.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,8 m x 3 mm que contiene 20 % de una fase estacionaria constituida por polietilenglicol (p.m.p. aproximadamente 15.000) diepóxido en un soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad, no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector a aproximadamente 265 °C. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un ascenso de 8 °C por minuto hasta 210 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de butanodiol no es menor de 98 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,4390 y 1,4410, a 20 °C.

2,3-Butanodiona - (*Diacetilo*) - $CH_3COCOCH_3$ - (PM: 86,1) - Líquido amarillo brillante a verde amarillento con fuerte olor, acre. Soluble en agua. Miscible con alcohol y éter. Hierve aproxima-

mente a 88 °C. Densidad relativa: aproximadamente 0,98.

Valoración -

Solución de clorhidrato de hidroxilamina - Disolver 20 g de clorhidrato de hidroxilamina en 40 ml de agua, y diluir con alcohol a 400 ml. Agregar, con agitación, 300 ml de hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N y filtrar. Descartar después de 2 días.

Procedimiento - Transferir aproximadamente 1 g, exactamente pesado, a un erlenmeyer con tapón de vidrio de 250 ml, agregar 75,0 ml de *Solución de clorhidrato de hidroxilamina*, e insertar el tapón en el erlenmeyer. Calentar a reflujo la mezcla durante 1 hora luego enfriar a temperatura ambiente. Agregar azul de bromofenol (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,5 N (SV) hasta punto final amarillo verdoso. [NOTA: alternativamente, la solución puede titularse potenciométricamente hasta pH 3,4.] Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido clorhídrico 0,5 N equivale a 43,05 mg de $CH_3COCOCH_3$. Contiene no menos de 97 % de $CH_3COCOCH_3$.

Índice de refracción - Entre 1,3935 y 1,3965, a 20 °C.

Intervalo de solidificación <180> - Entre - 2,0 y - 5,5 °C.

Butanol - Ver Alcohol butílico.

2-Butanona - Ver Metil etil cetona.

Butano sulfonato de sodio - (*Sal sódica del ácido 1-butano sulfónico*) - $C_4H_9NaO_3S$ - (PM: 160,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Butilamina normal - Ver *n*-Butilamina.

***n*-Butilamina** - $CH_3CH_2CH_2CH_2NH_2$ - (PM: 73,1) - Líquido incoloro a amarillo pálido, inflamable. Miscible con agua, alcohol y éter. Almacenarlo en envases de cierre perfecto. Densidad relativa: aproximadamente 0,740.

Intervalo de destilación <240> - *Método I*. No menos de 95 % destila entre 76 y 78 °C.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 1,0 %.

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g (1,5 ml) no presenta más que 0,01 mg de Cl (0,001 %).

Impurezas ácidas - A 50 ml, agregar 5 gotas de una solución saturada de azul violeta en benceno y titular rápidamente con metóxido sódico 0,1 N (SV) hasta punto final azul profundo, tomando precauciones para impedir la absorción de dióxido de carbono atmosférico mediante el empleo de una atmósfera de nitrógeno. No más de 1,0 ml de

metóxido sódico 0,1 N se requieren para la neutralización.

4-(Butilamino)benzoico, ácido - Ver *ácido 4-(Butilamino)benzoico*.

4-ter-Butilfenol - $C_{10}H_{14}O$ - (PM: 150,2) - Escamas o agujas blancas, cristalinas. Prácticamente insoluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Intervalo de fusión (260) - Entre 98 y 101 °C.

Butilhidroxianisol - Emplear *Butilhidroxianisol*.

Butilhidroxitolueno - Emplear *Butilhidroxitolueno*.

ter-Butil metil éter - $C_5H_{12}O$ - (PM: 88,2) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*)

equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m × 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 100 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a temperatura ambiente y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 150 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico $C_5H_{12}O$ no es menor de 99,8 % del área total.

Butilparabeno - (*p*-hidroxibenzoato de butilo) - $C_{11}H_{14}O_3$ - (PM: 194,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Butírico, ácido - Ver *Ácido butírico*.

Índice de refracción <230> - Entre 1,367 y 1,371, a 20 °C.

C

Cadmio - Cd - 112,4 - Metal blanco plateado brillante. Prácticamente insoluble en agua. Fácilmente soluble en ácido nítrico y ácido clorhídrico caliente.

Cafeína - Ver *Cafeína*.

Caolín ligero - Silicato de aluminio hidratado natural, purificado con un dispersante apropiado. Polvo blanco, ligero, libre de partículas granulares. Graso al tacto. Prácticamente insoluble en agua y ácidos minerales.

Partículas gruesas - Transferir 5,0 g de Caolín ligero a una probeta con tapón esmerilado, agregar 60 ml de una solución de 10 mg de pirofosfato de sodio por ml, agitar enérgicamente y dejar reposar durante 5 minutos. Con la ayuda de una pipeta, extraer 50 ml, tomados a unos 5 cm por debajo de la superficie. Agregar 50 ml de agua, agitar y dejar reposar durante 5 minutos. Repetir esta operación hasta que se hayan retirado 400 ml. Transferir la suspensión restante a una cápsula, evaporar a sequedad en un baño de agua y secar el residuo a una temperatura comprendida entre 100 y 105 °C hasta peso constante. El peso del residuo no debe ser mayor a 25 mg (0,5 %).

Partículas finas - Dispersar 5,0 g de Caolín ligero en 250 ml de agua, agitar enérgicamente durante 2 minutos y transferir a una probeta. Con la ayuda de una pipeta, transferir 20 ml de la suspensión a una cápsula, evaporar a sequedad en un baño de agua y secar el residuo a una temperatura comprendida entre 100 y 105 °C hasta peso constante. Dejar el resto de la suspensión en reposo a 20 °C durante 4 horas y con la ayuda de una pipeta transferir 20 ml tomados exactamente a 5 cm por debajo de la superficie de la suspensión, a una cápsula. Evaporar a sequedad en un baño de agua y secar el residuo a una temperatura comprendida entre 100 y 105 °C hasta peso constante. El peso del residuo de la segunda extracción no debe ser menor al 70 % del peso del residuo obtenido en la primera extracción.

Carbamato de metilo - C₂H₃NO₂ - (PM: 75,1) - Cristales blancos. Fácilmente soluble en agua.

Intervalo de fusión <260> - Entre 54 y 56 °C.

Carbazol - C₁₂H₉N - (PM: 167,21) - Polvo casi blanco a canela.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un equipo para cromatografía de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m

× 0,25 mm recubierta con una capa de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpoliloxano de 1 µm. Mantener el inyector, el detector y la columna a aproximadamente 280, 300 y 280 °C, respectivamente. Se debe emplear helio como gas transportador. La respuesta del pico de C₁₂H₉N no debe ser menor de 95,5 % de la respuesta total.

Carbón vegetal activado - (*Carbón activado; Carbón decolorante*) - Polvo fino, negro, inodoro, es el residuo de la destilación destructiva de diversos materiales orgánicos, tratado para aumentar su alta capacidad de adsorción de sustancias orgánicas coloreadas, así como bases nitrogenadas.

Poder adsorbente - Disolver 100 mg de sulfato de estriquina en 50 ml de agua, agregar 1 g de muestra, agitar durante 5 minutos y filtrar a través de un filtro seco, descartando los primeros 10 ml del filtrado. A 10 ml del filtrado, agregar 1 gota de ácido clorhídrico y 5 gotas de ioduro mercúrico (SR): no se produce turbidez.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - El residuo no pesa más de 20 mg, determinado sobre 500 mg (4,0 %).

Reacción - Calentar a ebullición 2 g con 50 ml de agua durante 5 minutos, dejar enfriar, restaurar el volumen original agregando cantidad suficiente de agua y filtrar: el filtrado es incoloro y es neutro al papel de tornasol.

Sustancias solubles en ácidos - Calentar a ebullición 1,0 g con 25 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 5) durante 5 minutos, filtrar a través de un crisol de porcelana previamente pesado y lavar el residuo con 10 ml de agua caliente. Combinar los lavados y el filtrado, agregar 1 ml de ácido sulfúrico, evaporar hasta sequedad e incinerar hasta peso constante: el residuo no pesa más de 35 mg (3,5 %).

Sustancias solubles en alcohol - Calentar a ebullición 2 g con 40 ml de alcohol durante 5 minutos bajo un condensador a reflujo y filtrar. Evaporar 20 ml del filtrado en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 2 mg (0,2%).

Elementos constitutivos no carbonizados - A 250 mg agregar 10 ml de hidróxido de sodio (SR), calentar a ebullición y filtrar: el filtrado es incoloro.

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 5 ml del filtrado obtenido en el ensayo para *Reacción* no presenta más de 0,04 mg de Cl (0,02 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I.* 5 ml del filtrado obtenido en el ensayo de *Reacción* no presenta más de 0,3 mg de SO_4 (0,15 %).

Sulfuro - Colocar 1 g en un erlenmeyer pequeño con un cuello estrecho, agregar 35 ml de agua y 5 ml de ácido clorhídrico y calentar a ebullición suavemente: los vapores que se desprenden no oscurecen un papel humedecido con acetato de plomo (SR).

Carbonato de amonio - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Carbonato de calcio - CaCO_3 - (PM: 100,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Carbonato de calcio, estándar para quelatometría - CaCO_3 - (PM: 100,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Carbonato de calcio precipitado - Emplear *Carbonato de calcio precipitado*.

Carbonato de potasio - Ver Carbonato de potasio anhidro.

Carbonato de potasio anhidro - K_2CO_3 - (PM: 138,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Carbonato de sodio - Emplear Carbonato de sodio anhidro.

Carbonato de sodio anhidro - Na_2CO_3 - (PM: 106,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Carbonato sódico hidrogenado - Ver Bicarbonato de sodio.

Caseína - Polvo blanco o algo amarillo, inodoro, granular. Insoluble en agua y otros solventes neutros; fácilmente soluble en amoníaco (SR) y soluciones de hidróxidos de álcali, generalmente forma una solución turbia.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - El residuo no pesa más de 20 mg, determinado sobre 2 g (1,0 %).

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 10,0 % de su peso.

Alcalinidad - Agitar 1 g con 20 ml de agua durante 10 minutos y filtrar: el filtrado no es alcalino frente al papel de tornasol rojo.

Sustancias solubles - Evaporar el filtrado del ensayo de *Alcalinidad* y secarlo a 105 °C, el residuo no pesa más de 1 mg (0,1 %).

Grasas - Disolver 1 g en una mezcla de 10 ml de agua y 5 ml de amoníaco alcohólico (SR) y agitar con dos porciones de 20 ml de éter de petróleo. Evaporar el éter de petróleo a temperatura

baja y secar a 80 °C: el peso del residuo no excede 5 mg (0,5 %).

Determinación de nitrógeno <200> - *Método I.* Contiene entre 15,2 y 16,0 % de N, sobre la sustancia anhidra.

Cuando se requiera caseína libre de vitaminas, emplear caseína que se ha liberado de su contenido de vitaminas liposolubles mediante extracción continua con alcohol caliente durante 48 horas seguido de secado al aire para remover el solvente.

Caseinato de calcio - Polvo blanco o algo amarillo, casi inodoro. Insoluble en agua fría, pero forma una solución lechosa cuando es suspendido en agua, agitado y calentado.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 5 g a 550 °C: el residuo pesa entre 150 y 300 mg (3,0 a 6,0 %).

Calcio - Tratar el residuo del ensayo anterior con 10 ml de ácido clorhídrico diluido, filtrar, y al filtrado transparente agregarle 5 ml de oxalato de amonio (SR): en reposo aparece un precipitado blanco.

Pérdida por secado <680> - Secar al vacío a 70 °C hasta peso constante: no pierde más de 7,0 % de su peso.

Grasa - Suspender 1,0 g en 5 ml de alcohol en un matraz de Mojonnier, agregar 0,8 ml de agua de amoníaco fuerte y 9 ml de agua y agitar. Agregar una segunda porción de 5 ml de alcohol luego agregar porciones sucesivas de 25 ml cada una de éter de petróleo, agitando después de cada agregado invirtiendo el matraz 30 veces. Centrifugar, decantar la fase orgánica, evaporar a temperatura baja y secar en un baño de vapor: el residuo pesa no más de 20 mg (2,0 %).

Determinación de nitrógeno <200> - *Método I.* Contiene entre 12,5 y 14,3 % de N, calculado sobre la sustancia anhidra.

Suspendibilidad en agua - Colocar 2 g en un vaso de precipitados y agregar agua fresca lentamente con agitación hasta formar una pasta delgada, suave. Completar con agua hasta obtener 100 ml. Agitar, y calentar a 80 °C: se forma una suspensión lechosa que no sedimenta después de 2 horas de reposo.

Catalizador de níquel-aluminio - Emplear uno de grado apropiado.

Catecol - (*o*-Dihidroxibenceno) - $\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2$ - (PM: 110,1) - Cristales blancos, que se decoloran por exposición al aire y luz. Fácilmente soluble en agua, alcohol, éter, cloroformo y piridina, formando soluciones claras.

Intervalo de fusión <260> - Entre 104 y 105 °C.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 500 mg con 5 gotas de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,2 %).

Cefelina - (*Dihidrocloruro de (R)-1-[(2S,3R,11bS)-3-etil-1,3,4,6,7,11b-hexahidro-9,10-dimetoxi-2H-benzo[α]quinolín-2-ilmetil]-1,2,3,4-tetrahidro-7-metoxi-6-isoquinolínol heptahidrato; Desmetilemetina*) - $C_{28}H_{40}Cl_2N_2O_4 \cdot 7H_2O$ - (PM: 666) - Polvo cristalino blanco o amarillento. Fácilmente soluble en agua, soluble en acetona y alcohol.

Rotación específica <170> - +25 °, determinada a 20 °C en una solución que contenga 20 mg por ml.

Celulosa con indicador de fluorescencia para cromatografía - Mezcla de celulosa con una sustancia fluorescente apropiada.

Celulosa microcristalina - Emplear *Celulosa microcristalina*.

Celulosa para cromatografía - Emplear uno de grado apropiado.

Cerebro de buey desecado con acetona, polvo de - Cortar en trozos pequeños un cerebro de buey fresco, libre de tejidos vasculares y conjuntivos. Deshidratar el material sumergiéndolo en acetona. Triturar 30 g en un mortero para completar la deshidratación y agregar porciones sucesivas de 75 ml de acetona hasta obtener un polvo seco luego de filtrar. Secar a 37 °C durante 2 horas o hasta que el olor a acetona desaparezca.

Cetrimida - (*Bromuro de alquiltrimetilamonio*) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cianoacetato de etilo - $CNCH_2COOC_2H_5$ - (PM: 113,1) - Líquido incoloro a amarillo pálido, de olor agradable. Poco soluble en agua. Miscible con alcohol y éter. Intervalo de ebullición: entre 205 y 209°C, con descomposición. A una presión de 10 mm de Hg destila aproximadamente a 90 °C.

Densidad relativa <160> - Entre 1,057 y 1,062.

Acidez - Disolver 2 ml en 25 ml de alcohol neutralizado, agregar fenoltaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,10 N: no se requieren más de 1,5 ml para producir color rosado.

Cianoguanidina - (*Diciandiamida; 1-cianoguanina*) - $C_2H_4N_4$ - (PM: 84,1) - Polvo blanco cristalino. Moderadamente soluble en alcohol; prácticamente insoluble en cloroformo y cloruro de metileno. Funde a proximadamente a 210 °C.

Cianuro de potasio - KCN - (PM: 65,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cianuro de sodio - NaCN - (PM: 49,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ciclohexano - C_6H_{12} - (PM: 84,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ciclohexanol - $C_6H_{12}O$ - (PM: 100,2) - Líquido transparente de olor alcanforáceo. Fácilmente soluble en agua. Miscible con alcohol, acetato de etilo e hidrocarburos aromáticos. Punto de fusión: aproximadamente a 23 °C. Densidad relativa: aproximadamente 0,962, a 20 °C.

Valoración - Cuando se analiza por cromatografía gas-líquido, empleando un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) y condiciones apropiadas, presenta una pureza no menor al 98 %.

Cinamato de bencilo - (*3-Fenilprop-2-enoato de bencilo*) - $C_{16}H_{14}O_2$ - (PM: 238,3) - Cristales amarillentos o incoloros. Prácticamente insoluble en agua, soluble en alcohol y éter. Punto de fusión: aproximadamente a 39 °C.

Cromatografía - Analizar según se especifica en la monografía de *Bálsamo de Perú*, aplicando sobre la placa 20 μ l de una solución al 0,3 % en acetato de etilo. Luego de pulverizar la placa y calentar, el cromatograma presenta una mancha principal cuyo R_f es aproximadamente 0,6.

Cinc - Zn - (PA: 65,39) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cinconidina - $C_{19}H_{22}N_2O$ - (PM: 294,4) - Cristales, polvo cristalino o granular color blanco. Soluble en alcohol y cloroformo; prácticamente insoluble en agua.

Valoración - Disolver aproximadamente 125 mg, exactamente pesados, en 50 ml de ácido acético glacial. Agregar unas gotas de *p*-naftolbenceína (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 14,72 mg de $C_{19}H_{22}N_2O$. Contiene no menos de 99,0 %.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 1,0 % de su peso.

Intervalo de fusión <260> - Entre 200 y 205 °C.

Rotación específica <170> - Entre -105° y -115°, calculado sobre la sustancia seca, determinada en una solución alcohólica que contiene 10 mg por ml.

Cinconina - $C_{19}H_{22}N_2O$ - (PM: 294,4) - Cristales, polvo cristalino o granular color blanco. Poco soluble en cloroformo; moderadamente soluble en alcohol; prácticamente insoluble en agua.

Valoración - Disolver aproximadamente 125 mg, exactamente pesados, en 50 ml de ácido acético glacial. Agregar unas pocas gotas de *p*-naftolbenceína (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 14,72 mg de C₁₉H₂₂N₂O. Contiene no menos de 99,0 %.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 1,0 % de su peso.

Intervalo de fusión <260> - Entre 255 y 261 °C.

Rotación específica <170> - Entre +219° y +229°, calculado sobre la sustancia seca, determinada en una solución alcohólica que contiene 50 mg por 10 ml.

Cineol - (*Eucaliptol*; 1,8-*Cineol*; 1,8-*Epoxi-p-mentano*) - C₁₀H₁₈O - (PM: 154,3) - Líquido incoloro, miscible en alcohol y éter; prácticamente insoluble en agua.

Densidad relativa <160> - Entre 0,922 y 0,927.

Índice de refracción <230> - Entre 1,456 y 1,459.

Punto de solidificación <180> - Entre 0 y 1 °C.

Intervalo de destilación <240> - Entre 174 y 177 °C.

Fenol - Agitar 1 g de Cineol con 20 ml de agua. Dejar reposar. Separar 10 ml de la fase acuosa y agregar 0,1 ml de cloruro férrico (SR): no debe producirse coloración violeta.

Escencia de trementina - Disolver 1 g de Cineol en 5 ml de alcohol. Agregar gota a gota agua de bromo, recientemente preparada: el viraje al amarillo de persistir durante 30 minutos y no se requieren más de 0,5 ml de agua de bromo.

Residuo de evaporación - A 10 ml de Cineol agregar 25 ml de agua, evaporar en un baño de agua y secar el residuo entre 100 y 105 °C hasta peso constante: no debe contener más de 0,05 %.

Para uso en cromatografía de gases, debe cumplir con el siguiente ensayo.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 60 m × 0,25 mm recubierta con una capa de fase estacionaria constituida por goma de polietilenglicol 20.000. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 220 °C. La temperatura de la columna se debe mantener a 60 °C durante 10 minutos, se programa un ascenso de 2 °C por minuto hasta 180 °C, y mantener a esta temperatura durante 5 minutos. Se emplea helio como gas transportador, el caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto. La respuesta

del pico principal no debe ser menor de 98,0 % de la suma de las respuestas de todos los picos.

Circonilo, nitrato de - ZrO(NO₂)₂ · 2H₂O - Polvo blanco o cristales higroscópicos. Soluble en agua. La solución acuosa debe ser transparente o ligeramente opalescente. Conservar en envases herméticos.

L-Cistina - (PM: 240,3) - HOOC(NH₂)CHCH₂S-SCH₂CH(NH₂)COOH - Polvo blanco, cristalino. Muy poco soluble en agua; soluble en ácidos minerales diluidos y en soluciones de hidróxidos alcalinos; insoluble en alcohol y en otros solventes orgánicos.

Rotación específica <170> - Entre -215° y -225°, determinada en una solución (2 en 100) de la muestra, secada previamente sobre gel de sílice durante 4 horas, en ácido clorhídrico diluido (1 en 10), a 20 °C.

Pérdida por secado <680> - Secar sobre gel de sílice durante 4 horas: no pierde más de 0,2 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,1 %.

Citral - C₁₀H₁₆O - (PM: 152,2) - Mezcla de (2*E*)- y (2*Z*)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal. Líquido amarillo claro, miscible con alcohol, éter y glicerina, prácticamente insoluble en agua.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en placa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia con 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno y acetato de etilo (85:15).

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 10 µl de una solución de citral en tolueno de 1 g por litro. Desarrollar el cromatograma hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, dejar secar y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm: el cromatograma debe presentar sólo una mancha principal.

Para uso en cromatografía de gases, debe cumplir con el siguiente ensayo.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 60 m × 0,25 mm recubierta con una capa de fase estacionaria constituida por goma de polietilenglicol 20.000 de 0,2 µm. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 260 °C. La temperatura de la columna se debe mantener a 80 °C durante 2 minutos, se programa un ascenso de 3 °C por

minuto hasta 150 °C, luego un ascenso de 2,2 C por minuto hasta 185 °C y luego se programa un ascenso de 9,3 °C por minuto hasta 250 °C. Se emplea helio como gas transportador, el caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto. El contenido de citral (neral + geranial) no debe ser menor de 95,0 %, calculado por el procedimiento de normalización.

Citrato cúprico - (*[Citrato(4-)]dicobre*) - (PM: 315,2) - $\text{Cu}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_7$ - Emplear uno de grado apropiado.

Citrato de sodio - Emplear *Citrato de sodio*.

Citrato de calcio - $\text{Ca}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 570,5) - Polvo blanco, inodoro, cristalino. Poco soluble en agua; fácilmente soluble en ácido clorhídrico 3 N y ácido nítrico 2 N; insoluble en alcohol. A 15 ml de ácido sulfúrico 2 N caliente agregar, en porciones y con agitación, aproximadamente 500 mg de citrato de calcio. Calentar a ebullición la mezcla durante 5 minutos y filtrar en caliente: el filtrado enfriado responde al ensayo de identificación para *Citrato* (ver 410. *Ensayos generales de identificación*).

Valoración - Pesar exactamente 400 mg de la sal, previamente secada a 150 °C hasta peso constante, y transferir a un vaso de precipitados de 250 ml. Disolver la muestra en 150 ml de agua que contiene 2 ml de ácido clorhídrico 3 N, agregar 15 ml de hidróxido de sodio 1 N y 250 mg de azul hidroxinaftol. Titular con edetato disódico 0,05 M (SV) hasta que la solución se torna de color azul profundo. Cada mililitro de edetato disódico 0,05 M equivale a 8,307 mg de $\text{Ca}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2$. Contiene entre 97,5 y 101 %.

Óxido de calcio y carbonato - Triturar 1 g de citrato de calcio con 5 ml de agua durante 1 minuto: la mezcla no colorea de rojo el papel de tornasol azul. Luego agregar 5 ml de ácido clorhídrico 3 N caliente: sólo se desprenden unas pocas burbujas aisladas.

Materia insoluble en ácido clorhídrico - Disolver 5 g calentando con una mezcla de 10 ml de ácido clorhídrico y 50 ml de agua durante 30 minutos: se obtiene no más de 2,5 mg de residuo insoluble (0,05%).

Pérdida por secado <680> - Secar a 150 °C hasta peso constante: pierde entre 12,2 y 13,3 % de su peso.

Límite de arsénico <540> - Proceder según se indica para compuestos orgánicos, empleando 0,50 g (6 ppm de As).

Metales pesados <590> - *Método I*. No más de 0,002 %.

Citrato dibásico de amonio - $(\text{NH}_4)_2\text{HC}_6\text{H}_5\text{O}_7$ - (PM: 226,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Citrato férrico amónico - Escamas delgadas, transparentes, de color rojo granate o gránulos o polvo amarillo pardusco, inodoro o con un ligero olor a amoníaco. Es delicuescente y sensible a la luz. Muy soluble en agua; insoluble en alcohol.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 1 g y transferir a un erlenmeyer con tapón de vidrio. Disolver en 25 ml de agua, agregar 5 ml de ácido clorhídrico y 4 g de ioduro de potasio, colocar el tapón en el erlenmeyer y dejar reposar en la oscuridad durante 15 minutos. Agregar 100 ml de agua y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 5,585 mg de Fe. Contiene entre 16,5 y 18,5 %.

Citrato férrico - A 250 mg disueltos en 25 ml de agua, agregar 1 ml de ferrocianuro de potasio (SR): no se forma precipitado azul.

Tartrato - Disolver 1 g en 10 ml de agua, agregar 1 ml de hidróxido de potasio (SR), calentar a ebullición para coagular el hidróxido férrico, agregando más hidróxido de potasio (SR), si fuera necesario, para precipitar todo el hierro, filtrar y acidificar levemente el filtrado con ácido acético glacial. Agregar 2 ml de ácido acético glacial y dejar reposar durante 24 horas: no se forma precipitado blanco cristalino.

Plomo <600> - Disolver 1,0 g en 30 ml de agua, agregar 5 ml de ácido nítrico diluido (1 en 21), calentar a ebullición suavemente durante 5 minutos, enfriar y diluir con agua a 50 ml: 20 ml de solución no presentan más de 0,008 mg de Pb (0,002 %).

Citronelal - (*3,7-Dimetil-6-octenal*) - $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$ - (PM: 154,3) - Soluble en alcoholes, muy poco soluble en agua.

Densidad relativa <160> - Entre 0,848 y 0,856.

Índice de refracción <230> - Aprox. 1,446.

Rotación específica <170> - Aprox. + 11,50°.

Para uso en cromatografía de gases, debe cumplir con el siguiente ensayo.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 60 m x 0,25 mm recubierta con una capa de fase estacionaria constituida por goma de polietilenglicol 20.000 de 0,2 µm. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 260 °C. La temperatura de la columna se debe mantener a 80 °C durante 2 minutos, se programa un ascenso de 3 °C por

minuto hasta 150 °C, luego un ascenso de 2,2 C por minuto hasta 185 °C y luego se programa un ascenso de 9,3 °C por minuto hasta 250 °C. Se emplea helio como gas transportador, el caudal debe ser aproximadamente 1,0 ml por minuto. El contenido de citronelal no debe ser menor de 95,0 %, calculado por el procedimiento de normalización.

Cloramina T - (*p*-Toluensulfocloramida) - (PM: 281,7) - $C_7H_7ClNNaO_2S \cdot 3H_2O$ - Cristales o polvo cristalino blanco o débilmente amarillo, con un leve olor a cloro. Fácilmente soluble en agua y agua hirviendo; soluble en alcohol, con descomposición; insoluble en cloroformo y éter. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto, en un sitio frío.

Valoración - Pesar exactamente 400 mg y disolver en 50 ml de agua. Agregar, en el siguiente orden, 10 ml de ioduro de potasio (SR) y 5 ml de ácido sulfúrico diluido. Dejar reposar durante 10 minutos y titular el yodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV). Cada mililitro de solución de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 14,1 mg de $C_7H_7ClNNaO_2S \cdot 3H_2O$. Contiene entre 98,0 y 103,0 % de $C_7H_7ClNNaO_2S \cdot 3H_2O$.

Compuesto orto - Calentar a ebullición 2,0 g con una mezcla de 10 ml de agua y 1,0 g de metabisulfito de sodio, enfriar en hielo y filtrar rápidamente: el residuo, luego de lavarse con tres porciones de 5 ml de hielo-agua fría y secado al vacío sobre pentóxido de fósforo, funde a una temperatura mayor o igual a 134 °C.

Cloruro de sodio - Pesar exactamente 1 g, agitar con 15 ml de alcohol absoluto, filtrar, lavar el residuo con dos porciones de 5 ml de alcohol absoluto y secar a 105 °C hasta peso constante: el residuo representa no más de 1,5 % del peso tomado.

Clorato de potasio - $KClO_3$ - (PM: 122,6) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Clorhidrato de alprenolol - $C_{15}H_{23}NO_2 \cdot HCl$ - (PM: 285,8) - Emplear uno de grado apropiado.

Clorhidrato de clortetraciclina - Emplear *Clorhidrato de clortetraciclina*.

Clorhidrato de 3,3'-diaminobencidina - (PM: 360,1) - $(NH_2)_2C_6H_3C_6H_3(NH_2)_2 \cdot 4HCl$ - Cristales en forma de aguja, de color blanco a canela amarillento (ocasionalmente púrpura). Soluble en agua. Estable en solventes orgánicos pero inestable en solución acuosa a temperatura ambiente. Almacenar las soluciones acuosas en un refrigerador.

Materia insoluble - Disolver 2 g en 100 ml de agua sin calentar y filtrar de inmediato: el residuo insoluble no es mayor de 1 mg (0,05 %).

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 2 g (0,05 %).

Ensayo de aptitud para la detección de selenio - Disolver 1,633 g de ácido selenioso (H_2SeO_3) en agua y diluir con agua a 1 litro. Diluir 10 ml de esta solución con agua a 1 litro, hasta obtener una solución que contenga 0,010 mg de Se por ml (*Solución de selenio estándar*). Transferir 1 ml de la solución resultante a un vaso de precipitados de 100 ml, agregar 2 ml de solución de ácido fórmico (1 en 7) y diluir con agua a 50 ml. Agregar 2 ml de solución de clorhidrato de 3,3'-diaminobencidina (1 en 200) y dejar reposar durante 30 a 50 minutos. Ajustar con hidróxido de amonio 6 N a pH entre 6 y 7. Transferir a una ampolla de decantación de 125 ml, agregar 10,0 ml de tolueno y agitar vigorosamente durante 30 segundos: se produce un color amarillo característico en la fase de tolueno. Un blanco conteniendo clorhidrato de diaminobencidina pero no *Solución de selenio estándar*, tratado de la misma manera, no presenta color en la fase de tolueno.

Clorhidrato de 2-etilaminopropiofenona - (PM: 213,7) - $C_6H_5COCH(CH_3)NHC_2H_5 \cdot HCl$ - Emplear uno de grado apropiado.

Clorhidrato p-fenilendiamina - (*Diclorhidrato de 1,4-diaminobenceno*) - $C_6H_8N_2 \cdot 2HCl$ - (PM: 181,1) - Cristales de color entre blanco y canela pálido o polvo cristalino, que se torna de color rojo por exposición al aire. Fácilmente soluble en agua; algo soluble en alcohol y éter. Conservar en envases inactivos de cierre perfecto.

Materia insoluble - Disolver 1 g en 10 ml de agua: la solución es clara y completa.

Absortividad molar (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*) - Disolver 60 mg en 100,0 ml de agua y mezclar. Transferir 2 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con solución reguladora pH 7 y mezclar. La absortividad molar de esta solución, a 239 nm, no es menor de 9000.

Clorhidrato de fenilhidracina - (PM: 144,6) - $C_6H_5NHNH_2 \cdot HCl$ - Cristales o polvo blanco o amarillento. Soluble en agua y alcohol. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto.

Intervalo de fusión <260> - Entre 242 y 246 °C, con un leve oscurecimiento.

Solubilidad - Disolver porciones separadas de 500 mg en 10 ml de agua y en 10 ml de alcohol, respectivamente, para obtener soluciones completas y transparentes o prácticamente transparentes.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,1 %).

Clorhidrato de fenoxibenzamina - [N-(2-Cloroetil)-N-(1-metil-2-fenoxietil)bencilamina clorhidrato] - $C_{18}H_{22}ClNO$. HCl - (PM: 340,3) - Polvo blanco, cristalino.

Intervalo de fusión <260> - Entre 137 y 140 °C.

Absortividad - Su absortividad (1 %, 1 cm) en el intervalo de 272 a 290 nm, en solución de cloroformo es aproximadamente 178.

Clorhidrato de guanidina - CH_5N_3 . HCl - (PM: 95,5) - Polvo cristalino blanco. Fácilmente soluble en agua y alcohol.

Intervalo de fusión <260> - Entre 178 y 189 °C.

Contenido de cloruro - Disolver aproximadamente 400 mg, exactamente pesados, en 5 ml de agua. Agregar 5 ml de ácido acético glacial, 50 ml de metanol y 1 gota de eosina (SR). Titular con nitrato de plata 0,1N (SV). Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 3,545 mg de Cl. Contiene no menos de 36,1 % y no más de 37,1 %, calculado sobre la sustancia anhidra.

Clorhidrato de guanina - $C_5H_5N_5O$. HCl . H_2O - (PM: 205,6) - Polvo blanco, cristalino. Funde por encima de 250 °C, con descomposición. Poco soluble en agua y alcohol; soluble en agua acidulada e hidróxido de sodio (SR). Sus soluciones no son precipitadas por yodo (SR) o por yoduro de potasio (SR) pero forman un precipitado con trinitrofenol (SR).

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 100 mg.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 10,0 % de su peso.

Clorhidrato de hidroxilamina - NH_2OH . HCl - (PM: 69,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Clorhidrato de metafenilendiamina - (Diclorhidrato de metafenilendiamina) - $C_6H_4(NH_2)_2$. $2HCl$ - (PM: 181,1) - Polvo cristalino blanco o algo rojizo. Fácilmente soluble en agua. Expuesto a la luz adquiere un color rojizo. Almacenar en envases inactivos.

Solubilidad - Una solución de 1 g en 200 ml de agua es incolora.

[NOTA: la solución de clorhidrato de metafenilendiamina puede ser decolorada mediante tratamiento con una pequeña cantidad de carbón activado.]

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,1 %).

Clorhidrato de metilbenzotiazolona-hidrazona - Ver Metilbenzotiazolona-hidrazona, clorhidrato de.

Clorhidrato de 1-naftilamina - $C_{10}H_7NH_2$. HCl (PM: 179,7) - Polvo blanco, cristalino que se torna azulado por exposición a la luz y al aire. Soluble en agua, alcohol y éter.

Una solución (1 en 100) acidificada con ácido acético, da un color violeta con 5 gotas de cloruro férrico (SR). Una solución (1 en 40) en ácido acético diluido es incolora y sólo algo opalescente.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 200 mg con unas pocas gotas de ácido sulfúrico: el peso del residuo es mínimo.

Clorhidrato de N-(1-naftil)etilendiamina - $C_{12}H_{14}N_2$. HCl - (PM: 259,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Clorhidrato del éster metílico de p-toluensulfonil-L-arginina - $C_{14}H_{22}N_4O_4S$. HCl - (PM: 378,9) - Determinar su aptitud según se especifica en el ensayo *Límite de tripsina* en *Quimotripsina*.

Clorhidrato del éster etílico de N-benzoil-L-arginina - $C_{15}H_{22}N_4O_3$. HCl - (PM: 342,8) - Determinar si es apropiado para emplear como sustrato según se especifica en *Tripsina cristalizada*.

Clorhidrato de piridoxal - $C_8H_9NO_3$. HCl - (PM: 203,6) - Cristales o polvo cristalino de un color entre blanco a ligeramente amarillo. Se oscurece gradualmente por exposición al aire o a la luz solar. Fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol; insoluble en acetona, cloroformo y éter. Sus soluciones son ácidas (aproximadamente pH 3).

Intervalo de fusión <260> - Entre 171 y 175 °C, con descomposición.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,1 %.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 2 horas: no pierde más de 0,5 % de su peso.

Contenido de nitrógeno (Ensayo para reactivos) - Determinar por el método de Kjeldahl, empleando una muestra secada previamente a 105 °C durante 2 horas: contiene entre 6,7 y 7,1 % de N.

Contenido de cloruro - Pesar exactamente 500 mg, previamente secados a 105 °C durante 2 horas, y disolver en 50 ml de agua. Agregar 3 ml de ácido nítrico y 50,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV) luego agregar 5 ml de nitrobenzoceno, agitar durante aproximadamente 2 minutos, agregar sulfato férrico amónico (SR) y titular el nitrato de plata en exceso con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N

equivale a 3,545 mg de Cl. Contiene entre 17,2 y 17,7 %.

Cloro - Cl₂ - (PM: 70,9) - Gas amarillo verdoso. Grado de alta pureza comercialmente disponible por la mayoría de los proveedores de gases de la especialidad.

m-Cloroacetanilida - C₈H₈ClNO - (PM: 169,6) - Gránulos de color beige a casi blanco.

Valoración -

Fase móvil - Acetonitrilo y agua (22:3).

Procedimiento - Inyectar aproximadamente 20 µl en un cromatógrafo de líquidos (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector a 254 nm y una columna de 15 cm x 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice porosa de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal es de aproximadamente 1,5 ml por minuto. El área del pico de C₈H₈ClNO no es menor de 99,9 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 79 y 80 °C.

p-Cloroacetanilida - C₈H₈ClNO - (PM: 169,6) - Cristales o polvo cristalino en forma de agujas, blanco o amarillo pálido. Insoluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Solubilidad - 1 g se disuelve en 30 ml de alcohol para formar una solución transparente.

Intervalo de fusión <260> - Entre 178 y 181 °C.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,1 %.

1-Cloroadamantano - C₁₀H₁₅Cl - (PM: 170,7) - Sólido cristalino de color blanco.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m x 0,25 mm recubierta con una capa de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano de 1 µm. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de C₁₀H₁₅Cl no es menor de 97,5 % del área total.

3-Cloroanilina - C₆H₆ClN - (PM: 127,6) - Líquido incoloro a pardo claro. Soluble en ácido y en la mayoría de los solventes orgánicos; prácticamente insoluble en agua.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m x 0,25 mm recubierta con una capa de 1 µm de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano.

Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de C₆H₆ClN no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,592 y 1,596, a 20 °C.

Clorobenceno - C₆H₅Cl - (PM: 112,6) - Líquido transparente, incoloro de olor característico. Insoluble en agua; soluble en alcohol, cloroformo y éter.

Densidad relativa <160> - Entre 1,100 y 1,111.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 129 y 131 °C.

Acidez - A 200 ml de metanol agregar rojo de metilo (SR) y neutralizar con hidróxido de sodio 0,1 N, sin tener en cuenta la cantidad de álcali consumido. Disolver 23 ml de muestra en el metanol neutralizado y titular con hidróxido de sodio 0,10 N: no se requiere más de 1,0 ml para neutralizar la muestra (aproximadamente 0,015 % como HCl).

Residuo de evaporación - Evaporar 91 ml en una placa calefactora y secar a 105 °C durante 30 minutos: el residuo no pesa más de 10 mg (aproximadamente 0,010 %).

4-Clorobenzofenona - C₁₃H₉ClO - (PM: 216,7) - Emplear uno de grado apropiado.

1-Clorobutano - Ver Cloruro de n-butilo.

Clorobutanol - (1,1,1-tricloro-2-metil-2-propanol) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

2-Cloroetilamina monoclóhidrato - (PM: 116,0) - C₂H₆ClN . HCl - Polvo casi blanco.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m x 0,25 mm recubierta con una capa de 1 µm de fase estacionaria que consiste en 14 % de cianopropilfenil y 86 % de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 150 °C y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a aproximadamente 50 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 200 °C. Se empleando helio como gas transportador. El área del pico de C₂H₆ClN . HCl no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 150 y 246 °C.

p-Clorofenol - C₆H₅ClO - (PM: 128,6) - Sólido cristalino blanco a amarillo pálido, de olor

característico. Moderadamente soluble en agua; muy soluble en acetona, éter y metanol.

Valoración - Transferir aproximadamente 200 mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados de 100 ml, agregar 25 ml de agua, agitar por rotación hasta disolver y agregar gota a gota, suficiente solución de hidróxido de sodio para asegurar la completa disolución de la muestra. Transferir la solución a un erlenmeyer con tapón de vidrio de 500 ml, emplear agua para lavar el vaso de precipitados y diluir con agua a aproximadamente 100 ml. Agregar 25,0 ml de bromurobromato de potasio 0,1 N (SV) y 10 ml de ácido clorhídrico, inmediatamente insertar el tapón en el erlenmeyer y agitar por rotación vigorosamente durante 2 a 3 minutos. Remover el tapón, agregar rápidamente 5 ml de solución de yoduro de potasio (1 en 5), teniendo cuidado de evitar pérdida de bromo, insertar de inmediato el tapón y agitar vigorosamente durante aproximadamente 1 minuto. Lavar el tapón y el cuello del erlenmeyer con agua. Titular con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Cada mililitro de bromuro-bromato de potasio 0,1 N equivale a 6,43 mg de C_6H_5OCl . Contiene no menos de 99 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 42 y 44 °C.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 90 % destila entre 218,5 y 221,5 °C.

Cloroformo - $CHCl_3$ - (PM: 119,4) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloroformo libre de alcohol - Emplear uno de grado apropiado.

Cloroformo, metil - Ver Metilcloroformo.

1-Cloronaftaleno - (*Alfacloronaftaleno*) - (PM: 162,6) - $C_{10}H_7Cl$ - Líquido incoloro a amarillo claro.

Valoración - Emplear un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,83 m × 3,2 mm con una fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano al 7 % sobre soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad, pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y 310 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se programa para que aumente 10 °C por minuto de 50

a 250 °C. Contiene no menos de 98 % de $C_{10}H_7Cl$, siendo 2-cloronaftaleno no más de 2 %.

Índice de refracción - Entre 1,6320 y 1,6340, a 20 °C.

2-Cloro-4-nitroanilina - $C_6H_5ClN_2O_2$ - (PM: 172,6) - Polvo cristalino amarillo. Fácilmente soluble en metanol. Funde aproximadamente a 107 °C. Conservar en envases inactivos.

Cloroplatinato de potasio - K_2PtCl_6 - (PM: 486,0) - Polvo pesado, amarillo. Soluble en ácido clorhídrico y ácido nítrico.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 300 mg, transferirlos a un vaso de precipitados de 600 ml, agregar 20 ml de ácido clorhídrico y calentar suavemente, si fuera necesario, para lograr la disolución completa. Agregar granallas de cinc, lentamente, hasta que no se disuelvan más. Agregar 2 ml de ácido clorhídrico y digerir durante 1 hora en un baño de vapor para coagular el platino reducido. Agregar más ácido, si fuera necesario, para asegurar que se haya disuelto todo el cinc. Filtrar a través de papel, lavando el vaso de precipitados con ácido clorhídrico diluido hasta que todo el precipitado sea transferido al filtro luego lavar con varias porciones de agua. Incinerar el filtro en un crisol previamente pesado a 800 ± 25 °C hasta peso constante. Cada miligramo de residuo equivale a 1,0 mg de platino. Contiene no menos de 40 %.

5-Cloro salicílico, ácido - Ver ácido 5-cloro salicílico.

Clorotrimetilsilano - C_3H_9ClSi - (PM: 108,6) - Líquido transparente, incoloro a amarillo claro. Emite gases cuando se expone al aire húmedo.

Precaución - *Reacciona violentamente con agua, alcoholes y otros dadores de hidrógeno. Almacenar en envases de vidrio de cierre perfecto.*

Índice de refracción - Entre 1,3850 y 1,3890, a 20 °C.

Cloruro cobaltoso - (*Cloruro de cobalto*) - (PM: 237,9) - $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro cúprico - $CuCl_2 \cdot H_2O$ - (PM: 170,5) - Cristales deliquescentes verde azulados. Fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol; poco soluble en éter.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1,0 mg, determinado sobre 10 g (0,010 %). Retener el filtrado y los lavados combinados para el ensayo de *Sulfato*.

Nitrato - Disolver 500 mg en 30 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 30). Lentamente agregar la solución, con agitación constante, a 20 ml de

solución de hidróxido de sodio (1 en 10) y digerir en un baño de vapor durante 15 minutos. Enfriar, diluir con agua a 50 ml y filtrar. A 10 ml del filtrado transparente, agregar 0,05 ml de índigo carmín (SR) seguido de 10ml de ácido sulfúrico: el color azul no desaparece completamente dentro de 5 minutos (aproximadamente 0,15 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método II*. El filtrado y los lavados combinados retenidos del ensayo para *Materia insoluble* no producen más de 1,2 mg de residuo (0,005 %).

Sustancias no precipitadas por sulfuro de hidrógeno - Disolver 2 g en 100 ml de agua, agregar 1 ml de ácido sulfúrico, calentar la solución a 70 °C y pasar sulfuro de hidrógeno a través de la solución hasta que el cobre precipite completamente. Dejar que el precipitado sedimente y filtrar sin lavar. Transferir 50,0 ml del filtrado a un cristallizador previamente pesado y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Suavemente calcinar el cristallizador sobre una llama y luego a 800 ± 25 °C hasta peso constante. Enfriar y pesar: el residuo no pesa más de 1,0 mg (0,1%). Retener el residuo para el ensayo de *Hierro*.

Hierro <580> - Al residuo retenido del ensayo anterior, agregar 2 ml de ácido clorhídrico, 2 ml de agua y 0,05 ml de ácido nítrico. Evaporar lentamente en un baño de vapor hasta sequedad luego tomar el residuo en 1 ml de ácido clorhídrico y 10 ml de agua. Diluir con agua a 100 ml y mezclar. A 20 ml de la dilución agregar 10 ml de agua y mezclar: 10 ml de esta solución no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,015 %). Retener la dilución del residuo para el ensayo de *Otros metales*.

Otros metales - A 20 ml de la solución del residuo retenida del ensayo para *Hierro* agregar un leve exceso de hidróxido de amonio, calentar a ebullición la solución durante 1 minuto, filtrar y lavar el residuo con agua hasta que el filtrado y los lavados combinados midan 20 ml. Neutralizar el filtrado con ácido clorhídrico diluido, diluir con agua a 25 ml y agregar 0,15 ml de hidróxido de amonio y 1 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): cualquier color producido no es más oscuro que el de un control que contiene, en el mismo volumen, 0,15 ml de hidróxido de amonio, 1 ml de sulfuro de hidrógeno (SR) y 0,02 mg de Ni (0,01 % como Ni).

Cloruro de acetilcolina - (PM: 181,7) - [CH₃COOCH₂CH₂N(CH₃)]Cl - Polvo blanco cristalino, inodoro o casi inodoro. Muy deliquescente. Muy soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol.

Intervalo de fusión <260> - Cuando se seca previamente a 110 °C en un tubo capilar durante 1 hora, funde entre 149 y 152 °C.

Reacción - Una solución 1 en 10 es neutra frente al tornasol.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 200 mg.

Solubilidad en alcohol - Una solución de 500 mg en 5 ml de alcohol es completa e incolora.

Porcentaje de acetilo (CH₃CO) - Pesar exactamente 400 mg, previamente secados a 105 °C durante 3 horas, y disolver en 15 ml de agua en un erlenmeyer con tapón de vidrio. Agregar 40,0 ml de hidróxido de sodio 0,1 N (SV), calentar en un baño de vapor durante 30 minutos. Insertar el tapón, dejar enfriar, agregar fenoltaleína (SR) y titular el exceso de álcali con ácido sulfúrico 0,1 N (SV). Determinar la normalidad exacta del hidróxido de sodio 0,1 N titulando 40,0 ml, una vez tratados de la misma manera que en el ensayo. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 4,305 mg de CH₃CO. Contiene entre 23,2 y 24,2 %.

Porcentaje de cloro (Cl) - Pesar exactamente 400 mg, previamente secados a 105 °C durante 3 horas, y disolver en 50 ml de agua en un erlenmeyer de 125 ml con tapón de vidrio. Agregar mediante agitación 30,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV), a continuación agregar 5 ml de ácido nítrico y 5 ml de nitrobenzono, agitar, agregar 2 ml de sulfato férrico amónico (SR) y titular el nitrato de plata en exceso con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N (SV) equivale a 3,545 mg de Cl. Contiene entre 19,3 y 19,8 % de Cl.

Cloruro de acetilo - CH₃COCl - (PM: 78,5) - Líquido transparente, incoloro, de fuerte olor acre. Se descompone en presencia de agua y alcohol. Miscible con cloroformo. Densidad relativa: aprox. 1,1.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 94 % destila entre 49 y 53 °C.

Residuo de evaporación - Evaporar 10 ml en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 2,5 mg (aproximadamente 0,02 %).

Miscibilidad con cloroformo - Porciones separadas de 5 ml proporcionan soluciones claras con 20 ml de cloroformo.

Solubilidad - Colocar 5 ml en una probeta de 50 ml y agregar con cuidado, gota a gota, aproximadamente 3 ml de agua, agitando luego de cada agregado hasta que la reacción se complete, luego diluir con agua a 50 ml: la solución es transparente.

Compuestos fosforados (Ensayo para reactivos) - Agregar 3 ml de ácido nítrico a 5 ml de la solución obtenida en el ensayo para *Solubilidad* y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. El residuo, disuelto en 20 ml de agua, no presenta más de 0,03 mg de PO_4 (0,02 % como P).

Metales pesados - Diluir 10 ml de la solución obtenida en el ensayo para *Solubilidad* con 30 ml de agua, agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR) y alcalinizar con amoníaco (SR): no se produce ningún cambio notorio en el color.

Cloruro de amonio - NH_4Cl - (PM: 53,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de bario - $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 244,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de bario anhidro - BaCl_2 - (PM: 208,2) - Puede obtenerse secando cloruro de bario en capas delgadas a 125 °C hasta que la pérdida de peso entre dos periodos de secado de 3 horas sucesivos no sea mayor de 1 %.

Cloruro de bario dihidrato - Emplear cloruro de bario.

Cloruro de bencenosulfonilo - $\text{C}_6\text{H}_5\text{SO}_2\text{Cl}$ - (PM: 176,6) - Líquido incoloro, aceitoso. Insoluble en agua fría; soluble en alcohol y éter. Solidifica a 0 °C.

Intervalo de fusión <260> - Entre 14 y 17 °C.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 251 y 252 °C.

Cloruro de benciltrimetilamonio - (PM: 185,7) $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{Cl}$ - Disponible como una solución acuosa al 60 %. Esta solución es transparente e incolora o algo amarillenta y tiene un leve olor a amina.

Valoración - Transferir 2 ml a un matraz aforado de 50 ml y completar a volumen con agua. Transferir 20 ml de la solución en un erlenmeyer de 125 ml, agregar aproximadamente 30 ml de agua, luego agregar 0,25 ml de diclorofluoresceína (SR) y titular con nitrato de plata 0,1 N (SV).

Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 18,57 mg de $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{Cl}$. Contiene entre 59,5 y 60,5 %.

Cloruro de benzalconio - Emplear *Cloruro de benzalconio*.

Cloruro de benzoilo - $\text{C}_6\text{H}_5\text{COCl}$ - (PM: 140,6) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de cobalto - $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 237,9) - Polvo cristalino rojo o cristales rojo oscuro. Muy soluble en agua; soluble en alcohol.

Cloruro de *n*-butilo - (*1-Clorobutano*) - $\text{C}_4\text{H}_9\text{Cl}$ - (PM: 92,6) - Líquido transparente,

incoloro, volátil, de olor leve, característico. Altamente inflamable. Prácticamente insoluble en agua. Miscible con alcohol y éter.

Valoración - Analizar por cromatografía gas-líquido empleando un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,8 m × 3 mm con una fase estacionaria de polietilenglicol (p.m.p aproximadamente 15.000 [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido]) sobre soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad, pero no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el detector y el inyector a aproximadamente 310 y 230 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se programa para aumentar 10 °C por minuto de 35 a 150 °C. Se emplea helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 40 ml por minuto. Presenta una pureza de no menos de 98 %.

Intervalo de ebullición <240> - Entre 76 y 80 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 2 °C.

Índice de refracción - Entre 1,4015 y 1,4035, a 20 °C.

Acidez - Agregar fenoltaleína (SR) a 75 ml y titular con hidróxido de potasio 0,1 N en metanol hasta color rosado débil persistente, con agitación, durante 1,5 segundos: no se requieren más de 0,91 ml (aproximadamente 0,005 % como HCl).

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 0,02 %.

Residuo después de la evaporación - Evaporar aproximadamente 60 ml (50 g), exactamente pesados, en una cápsula de platino, previamente pesada, en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: no contiene más de 0,005 %.

Cloruro de calcio - $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 147,0) - Emplear cloruro de calcio dihidrato de grado apropiado.

Cloruro de calcio anhidro (para secado) - CaCl_2 - (PM: 111,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de cesio - CsCl - (PM: 168,4) - Polvo blanco. Muy soluble en agua; fácilmente soluble en metanol; prácticamente insoluble en acetona.

Cloruro de cetiltrimetilamonio al 25 % en agua - $\text{C}_{19}\text{H}_{42}\text{ClN}$ - (PM: 320,0) - Emplear uno de grado apropiado.

Cloruro de cinc anhidro pulverizado - Emplear *Cloruro de cinc* secado y pulverizado.

Cloruro de colina - $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{Cl}$ - (PM: 139,6) - Cristales blancos o polvo cristalino. Muy soluble en agua. Es higroscópico. Almacenar en envases de cierre perfecto.

Valoración - Transferir aproximadamente 100 mg, previamente secados a 105 °C durante 2 horas y exactamente pesados, a un vaso de precipitados, agregar 20 ml de agua y 1 gota de solución de cloruro de aluminio (1 en 10) y mezclar. Agregar lentamente 20 ml de una solución de tetrafenilborato de sodio recientemente preparada y filtrada (1 en 50) y dejar la mezcla en reposo durante 30 minutos agitando ocasionalmente por rotación. Filtrar a través de un filtro de vidrio sinterizado de porosidad media y lavar el vaso de precipitados y el precipitado con cuatro porciones de 10 ml de agua. El peso del precipitado, determinado luego de secar a 105 °C durante 2 horas y multiplicado por 0,3298, da el peso equivalente de $\text{C}_3\text{H}_{14}\text{ClNO}$. Contiene no menos de 99,5 %.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,1 %.

Cloruro de dimetiletil(3-hidroxifenil)amonio - Emplear *Cloruro de edrofonio*.

Cloruro de 3,5-dinitrobenzoilo - (PM: 230,6) - $(\text{NO}_2)_2\text{C}_6\text{H}_3\text{COCl}$ - Polvo cristalino amarillo pálido. Fácilmente soluble en soluciones de hidróxido de sodio diluidas; soluble en alcohol.

Intervalo de fusión <260> - Entre 67 y 69 °C.

Solubilidad en hidróxido de sodio - Una solución de 500 mg en 25 ml de hidróxido de sodio 1 N es transparente o no más que débilmente turbia.

Residuo de ignición - Someter a ignición 1 g con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,1 %).

Cloruro de etileno - (*1,2-Dicloroetano*) - $\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$ - (PM: 99,0) - Líquido transparente e incoloro: Miscible con éter. Soluble en 120 partes de agua aproximadamente; soluble en 2 partes de alcohol.

Densidad relativa <160> - Aprox. 1,250.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 82 y 84 °C.

Cloruro de 3-hidroxifenildimetiletil amonio - [*Cloruro de dimetiletil(3-hidroxifenil)amonio*] - Emplear *Cloruro de edrofonio*.

Cloruro de lantano - LaCl_3 - (PM: 245,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de litio - LiCl - (PM: 42,4) - Cristales o gránulos blancos, deliquescentes. Fácilmente soluble en agua; soluble en acetona, alcohol,

alcohol amílico y éter. Conservar en envases de cierre perfecto.

Valoración - Disolver aproximadamente 1,3 g, previamente secados a 120 °C durante 1 hora y exactamente pesados, en agua para obtener 50,0 ml. Transferir 5 ml de la solución a un erlenmeyer de 250 ml y agregar 5 ml de ácido acético glacial, 50 ml de metanol y 2 gotas de eosina (SR). Titular lentamente con nitrato de plata 0,1 N (SV), agregándolo gota a gota hacia el final, hasta que se torne de un color rojo intenso algo fluorescente. Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 4,239 mg de LiCl . Contiene no menos de 98 %.

Neutralidad - Disolver 2 g en 20 ml de agua y agregar 1 gota de rojo de metilo (SR): cualquier color rojo producido vira al amarillo con el agregado de no más de 0,30 ml de hidróxido de sodio 0,020 N. Cualquier color amarillo producido vira a rosado con el agregado de no más de 0,30 ml de ácido clorhídrico 0,020 N.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1,0 mg, determinado sobre 10 g (0,010 %).

Nitrato (Ensayo para reactivos) - 1 g disuelto en 2 ml de agua no presenta más color que el que se observa en 1,0 ml de *Solución de nitrato estándar* (0,001 %).

Fosfato (Ensayo para reactivos) - 2 g no presentan más de 0,02 mg de PO_4 (0,001 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. 1 g presenta no más de 0,2 mg de SO_4 (0,02 %).

Amonio -

Solución de amonio estándar - Disolver 296 mg de cloruro de amonio en agua para obtener 1 litro. Esta solución contiene el equivalente de 0,1 mg de amonio (NH_4) por ml.

Procedimiento - A una solución de 900 mg en 50 ml de agua, agregar 1 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 10) y 2 ml de iodomercuriato de potasio alcalino (SR): no se produce más color que el producido por 0,3 ml de *Solución de amonio estándar*, diluido con agua a 50 ml y tratado en forma similar (0,003 %).

Bario - Disolver 2 g en 20 ml de agua, filtrar y fraccionar el filtrado en dos porciones iguales. A una porción agregar 1 ml de ácido sulfúrico diluido y al otro agregar 1 ml de agua: luego de 2 horas, las dos porciones están igualmente claras.

Calcio (Ensayo para reactivos) - Disolver 2,50 g en agua para obtener 100 ml (*Solución muestra*). Disolver otros 2,50 g en una mezcla de 5,00 ml de *Solución de calcio estándar* y agua para obtener 100ml (*Solución control*). Determinar el calcio según se indica en *Espectrofotometría de absorción y emisión atómica para reactivos* (Ensayo para reactivos) (0,02%).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 0,001 %.

Hierro <580> - Una solución de 500 mg en 47 ml de agua que contiene 2 ml de ácido clorhídrico no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,002 %).

Magnesio -

Solución de magnesio estándar - Disolver 1,014 g de cristales transparentes no eflorecidos de sulfato de magnesio en agua para obtener 1 litro. Esta solución contiene el equivalente de 0,1 mg de magnesio (Mg) por ml.

Procedimiento - A una solución de 1 g en 45 ml de agua, agregar 0,5 ml de solución de amarillo de tiazol (1 en 10.000) y 5 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 10): el color rosado que se produce no es más intenso que el producido por 1 ml de *Solución de magnesio estándar*, diluida con agua a 45 ml y tratada en forma similar (0,1 %).

Potasio (Ensayo para reactivos) - Disolver 5,0 g en agua para obtener 100 ml (*Solución muestra*). Disolver otros 5,0 g en una mezcla de 1,00 ml de *Solución de potasio estándar* y agua para obtener 100 ml (*Solución control*). Determinar el potasio según se indica en *Fotometría de llama para reactivos* (Ensayo para reactivos) (0,01 %).

Sodio (Ensayo para reactivos) - Disolver 200 mg en agua para obtener 100 ml (*Solución muestra*). Disolver otros 200 mg en una mezcla de 20 ml de *Solución de sodio estándar* y agua para obtener 100 ml (*Solución control*). Determinar el sodio según se indica en *Fotometría de llama para reactivos* (Ensayo para reactivos) (0,1 %).

Cloruro de magnesio - $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ - (PM: 203,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de metileno - (*Diclorometano*) - CH_2Cl_2 - (PM: 84,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de nitrobenzoilo - $C_7H_4ClNO_3$ - (PM: 185,6) - Masa cristalizada o cristales amarillos que se descomponen en el aire húmedo. Muy soluble en soluciones de hidróxido de sodio dando una solución amarilla-anaranjada.

Punto de fusión - Aprox. 72 °C.

Cloruro de oro - (*Ácido cloráurico*) - $HAuCl_4 \cdot 3H_2O$ - (PM: 393,8) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de paladio - $PdCl_2$ - (PM: 177,3) - Polvo cristalino marrón. Soluble en agua, alcohol, acetona y ácido clorhídrico diluido.

Valoración - Disolver 80 mg, exactamente pesados, en 10 ml de ácido clorhídrico diluido, diluir con agua a 50 ml y agregar 25 ml de una

solución 1 en 100 de dimetilglioxima en alcohol. Dejar reposar durante 1 hora y filtrar. Controlar la completa precipitación con la solución de dimetilglioxima. Incinerar el precipitado en un crisol de platino, previamente pesado, a 850 °C durante 2 horas, enfriar y pesar el paladio. El peso del residuo no es menor de 59,0 % del peso de la muestra.

Cloruro de potasio - KCl - (PM: 74,6) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de sodio - NaCl - (PM: 58,4) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de tetrametilamonio - $(CH_3)_4NCl$ - (PM: 109,6) - Cristales incoloros. Soluble en agua y alcohol; insoluble en cloroformo.

Valoración - Transferir aproximadamente 200 mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados, agregar 50 ml de agua y 10 ml de ácido nítrico diluido, agitar por rotación hasta disolver la muestra, agregar 50,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV) y mezclar. Agregar 2 ml de sulfato férrico amónico (SR) y 5 ml de nitrobenzoceno, agitar y titular el exceso de nitrato de plata con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 10,96 mg de $(CH_3)_4NCl$. Contiene no menos de 98 %.

Cloruro de trifeniltetrazolio - $C_{19}H_{15}ClN_4$ - (PM: 334,8) - Polvo cristalino blanco a amarillento. Fácilmente soluble en agua y alcohol; poco soluble en acetona; insoluble en éter. Contiene generalmente solvente de cristalización y cuando se seca a 105 °C funde aproximadamente a 240 °C, con descomposición.

Solubilidad - Porciones separadas de 100 mg se disuelven completamente en 10 ml de agua y en 10 ml de alcohol, respectivamente, dando soluciones transparentes o prácticamente transparentes.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 5,0 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 100 mg.

Sensibilidad - Disolver 10 mg en 10 ml de alcohol absoluto (A). Luego disolver 10 mg de dextrosa en 20 ml de alcohol absoluto (B). A 0,2 ml de B agregar 1 ml de alcohol absoluto y 0,5 ml de hidróxido de tetrametilamonio (SR) diluido (1 volumen se diluye con 9 volúmenes de alcohol absoluto) luego agregar 0,2 ml de A: un color rojo intenso se desarrolla dentro de los 10 minutos.

Cloruro de trifluorvinilo (polímero) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro de vinilo - C_2H_3Cl - (PM: 62,5) - Gas incoloro. Poco soluble en solventes orgánicos.

Cloruro de trimetilacetohidrazida amonio - (*Cloruro de betain hidracida; Reactivo de Girard T*) $[(CH_3)_3N^+CH_2CONHNH_2]Cl^-$ - (PM: 167,6) - Cristales incoloros o blancos. Fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol; insoluble en cloroformo y éter. Higroscópico.

Intervalo de fusión <260> - Entre 185 y 192 °C, determinado luego de recristalización de alcohol caliente, si fuera necesario.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 10 mg (1 %).

Cloruro estañoso - $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ - (PM: 225,7) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro férrico - $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ - (PM: 270,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro mercúrico - $HgCl_2$ - (PM: 271,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cloruro platínico - (*Ácido cloroplatínico*) - $H_2PtCl_6 \cdot 6H_2O$ - (PM: 517,9) - Emplear Ácido cloroplatínico de grado apropiado.

Cloruro talioso - $TiCl_4$ - (PM: 239,8) - Polvo fino, blanco, cristalino. Poco soluble en agua fría; moderadamente soluble en agua en ebullición; insoluble en alcohol. *Precaución* - *Veneno*; emplear con ventilación apropiada.

Valoración - Disolver aproximadamente 500 mg, exactamente pesados, en una mezcla de 80 ml de agua y 0,5 ml de ácido sulfúrico. Cuando la disolución es completa, agregar 20 ml de ácido clorhídrico. Calentar a 60 °C y mantener esta temperatura mientras se titula con sulfato cérico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente, empleando electrodos de plata-cloruro de plata y platino. Cada mililitro de sulfato cérico 0,1 N equivale a 11,99 mg de $TiCl_4$. Contiene no menos de 99 %.

Cobaltinitrito de sodio - $Na_3Co(NO_2)_6$ - (PM: 403,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cobalto, cloruro de - Ver Cloruro de cobalto.

Cobre - Cu - (PA: 63,55) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Colestano - $C_{27}H_{48}$ - (PM: 372,7) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Colesterilo, n-heptilato - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Compactina - $C_{23}H_{34}O_5$ - (PM: 390,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cortisona - $C_{21}H_{28}O_5$ - (PM: 360,4) - Polvo blanco, cristalino. Prácticamente insoluble en agua; moderadamente soluble en alcohol y acetona. Funde aproximadamente a 220 °C, con descomposición.

Máximo de absorción - El espectro de absorción ultravioleta de una solución 1 en 100.000 en alcohol presenta un máximo aproximadamente a 238 nm.

Rotación específica <170> - Aproximadamente + 209°, determinada en una solución 1 en 100 en alcohol.

Cromato de potasio - K_2CrO_4 - (PM: 194,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Cromatografía, celulosa con indicador de fluorescencia para - Ver Celulosa con indicador de fluorescencia para cromatografía.

Cromatografía, éter de petróleo para - Ver Éter de petróleo para cromatografía.

Cromatografía, gel de sílice para - Ver Gel de sílice para cromatografía.

Cromatografía, gel de sílice con indicador de fluorescencia para - Ver Gel de sílice con indicador de fluorescencia para cromatografía.

Cromatografía, n-heptano para - Ver n-Heptano para cromatografía.

Cromatografía, óxido de magnesio para - Ver Óxido de magnesio para cromatografía.

Cromatografía, tierra de Fuller para - Ver Tierra de Fuller para cromatografía.

Cromatografía, tierra silícea para - Ver Tierra silícea para cromatografía.

Cromatografía, tierra silícea silanizada para - Ver Tierra silícea silanizada para cromatografía.

Cromazurol - $(5-[(3-Carboxilato-5-metil-4-oxociclohexa-2,5-dien-1-ilideno)(2,6-dicloro-3-sulfonatofenil)metil]-2-hidroxi-3-metilbenzoato de trisodio)$ - $C_{23}H_{13}Cl_2Na_3O_9S$ - (PM: 605,0) - Polvo negro pardusco, soluble en agua, poco soluble en alcohol.

Cromotropato de sodio - Ver Ácido cromotrópico.

Cromotropato disódico - (*Sal disódica del ácido 4,5-dihidroxi-2,7-naftalenodisulfónico*) - $C_{10}H_6O_8S_2Na_2 \cdot 2H_2O$ - (PM: 400,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Curcumina - (*1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)hepta-1,6-dieno-3,5-diona*) - $C_{21}H_{20}O_6$ - (PM: 368,4) - Polvo cristalino, pardo-anaranjado. Soluble en ácido acético glacial; prácticamente insoluble en agua y éter.

Punto de fusión - Aprox. 183 °C.

D

Dantrón - (1,8-Dihydroxiantraquinona) - $C_{14}H_8O_4$ (PM: 240,2) - Emplear uno de grado apropiado.

Decanol - (Alcohol *n*-decílico) - $C_{10}H_{22}O$ - (PM: 158,3) - Líquido transparente, viscoso. Densidad relativa: aproximadamente 0,83, a 20 °C. Solidifica aproximadamente a 6,5 °C. Insoluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Valoración - Cuando se analiza por cromatografía gas-líquido (ver 100. *Cromatografía*) empleando un cromatógrafo de gases y condiciones apropiadas, presenta una pureza no menor a 99 %.

1-Decanosulfonato de sodio - Emplear uno de grado apropiado.

Decilsulfato de sodio - $C_{10}H_{21}NaO_4S$ - (PM: 260,3) - Sólido blanco, cristalino.

Valoración - Transferir aproximadamente 1 g, exactamente pesado, a un crisol apropiado, previamente pesado, humedecer con unas gotas de ácido sulfúrico y someter a ignición suavemente hasta peso constante. Cada miligramo de residuo equivale a 3,662 mg de $C_{10}H_{21}NaO_4S$. Contiene no menos de 95%.

Desoxicolato de sodio - Ver Sales biliares.

2'-Desoxiuridina - $C_9H_{12}N_2O_5$ - (PM:228,2).

Punto de fusión <260> - Aprox. 165 °C.

Cromatografía - Analizar según se indica en el ensayo para *Sustancias relacionadas* en *Idoxiuridina* aplicando 5 μ l de una solución de 5-iodouracilo que contenga 0,25 mg por ml. El cromatograma sólo presenta una mancha principal.

Deuterocloroformo - $CDCl_3$ - (PM: 120,4) - Emplear uno de grado apropiado.

Dextrina - $(C_6H_{10}O_5)_n \cdot xH_2O$ - Polvo amorfo blanco. Lentamente soluble en agua fría; más fácilmente soluble en agua caliente; insoluble en alcohol.

Materia insoluble - Calentar a ebullición 1 g con 30 ml de agua en un matraz apropiado: la solución es incolora y transparente o débilmente no opalescente.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 10,0 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 5 mg (0,5 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - Disolver 3 g en 75 ml de agua hirviendo, enfriar, diluir con agua

a 75 ml y filtrar si fuera necesario. A 25 ml del filtrado agregar 2 ml de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata (SR) y dejar reposar durante 5 minutos: cualquier turbidez producida no es mayor que la de un control que contiene 0,02 mg de Cl (0,002 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I.* A una porción de 25 ml del filtrado del ensayo anterior, agregar 0,5 ml de ácido clorhídrico diluido y 2 ml de cloruro de bario (SR) y dejar reposar durante 10 minutos: cualquier turbidez producida no es mayor que la de un control que contiene 0,2 mg de SO_4 (0,02 %).

Sustancias solubles en alcohol - Calentar a ebullición 1 g con 20 ml de alcohol durante 5 minutos bajo un refrigerante y filtrar en caliente. Evaporar 10 ml del filtrado en un baño de vapor y secar a 105 °C: el residuo no pesa más de 5 mg (1 %).

Azúcares reductores - Agitar 2 g con 100 ml de agua durante 10 minutos y filtrar hasta clarificar. A 50 ml del filtrado, agregar 50 ml de tartrato cúprico alcalino (SR) y calentar a ebullición durante 3 minutos. Filtrar a través de un crisol filtrante, previamente pesado, lavar con agua luego con alcohol y finalmente con éter y secar a 105 °C durante 2 horas: el precipitado de óxido cuproso no pesa más de 115 mg (correspondiente a aproximadamente 5 % de azúcares reductores como dextrosa).

Dextro pantotenato de calcio - Emplear *Pantotenato de calcio*.

Dextrosa anhidra - $C_6H_{12}O_6$ - (PM: 180,2) - Emplear *D*-glucosa anhidra de grado apropiado.

Diacetilo - Ver 2,3-Butanodiona.

2,3-Diaminonaftaleno - $C_{10}H_{10}N_2$ - (PM: 158,2) - Emplear uno de grado apropiado.

Diaveridina - $C_{13}H_{16}N_4O_2$ - (PM: 260,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Dibencilo - Ver Bibencilo.

2,6-Dibromoquinona-clorimida - (2,6-Dibromo-*N*-cloro-*p*-benzoquinonaimina; reactivo *DBQ*) - $O:C_6H_2Br_2:NCI$ - (PM: 299,4) - Polvo amarillo, cristalino. Insoluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones de hidróxidos alcalinos diluidos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 82 y 84 °C.

Solubilidad en alcohol - Una solución de 100 mg en 10 ml de alcohol presenta sólo una leve turbidez.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 500 mg con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,2 %).

Sensibilidad - A 10 ml de una solución en agua que contiene 0,01 mg de fenol agregar 0,3 ml de una solución reguladora de borato de sodio (preparada disolviendo 2,84 g de borato de sodio cristalizado en 90 ml de agua caliente, agregando 8,2 ml de hidróxido de sodio 1 N y diluyendo con agua a 100 ml) y 0,1 ml de una solución de 10 mg de la muestra en 20 ml de alcohol: se desarrolla un color azul característico dentro de los 10 minutos.

Dibutilamina - $C_8H_{19}N$ - (PM: 129,3) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μ m de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a 200 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 100 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 200 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico $C_8H_{19}N$ no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,415 y 1,419, a 20 °C.

Diciclohexilamina - $(C_6H_{11})_2NH$ - (PM: 181,3) - Líquido transparente, fuertemente alcalino, con débil olor a pescado. Moderadamente soluble en agua. Miscible con solventes orgánicos comunes. Densidad: 0,9104. Solidifica a + 0,1 °C; funde aproximadamente a 20 °C.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 400mg en un pesafiltro previamente pesado. Transferir el pesafiltro tapado a un vaso de precipitados de 250 ml, agregar ácido acético glacial (SR) suficiente para cubrir el pesafiltro y abrirlo bajo la superficie del ácido. Agregar cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV). Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 18,13 mg de $(C_6H_{11})_2NH$. Contiene no menos de 98 %.

Densidad relativa <160> - Entre 0,911 y 0,917.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 255 y 257 °C.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 0,5 %.

Diciclohexilo - (*Biciclohexilo*) - $C_{12}H_{22}$ - (PM: 166,3).

Punto de ebullición - Aprox. 227 °C.

Punto de fusión <260> - Aprox. 4 °C.

Diciclohexilurea - (*1,3-Diciclohexilurea*) - $(C_{13}H_{24}N_2O)$ - (PM: 222,4) - Polvo cristalino blanco.

Punto de fusión <260> - Aprox. 232 °C.

N,N-Diclorhidrato de dimetil-p-fenilendiamina - $(CH_3)_2NC_6H_4NH_2 \cdot 2HCl$ - (PM: 209,1) - Sólido fino cristalino casi blanco, higroscópico, puede tener un tinte rosado. Fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol.

Valoración - Transferir aproximadamente 400 mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados de 250 ml y disolver en aproximadamente 75 ml de agua. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) determinando el punto final potenciométricamente. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 10,46 mg de $C_8H_{12}N_2 \cdot 2HCl$. Contiene no menos de 98 %.

Solubilidad - Una solución de 1 g en 10 ml de agua no produce más que una leve turbidez.

Diclorhidrato de o-fenilendiamina - (PM: 181,1) $C_6H_8N_2 \cdot 2HCl$ - Polvo blanco.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Alcohol butílico, agua y ácido acético (12:5:3).

Procedimiento - Examinar la placa bajo luz ultravioleta a 254 nm: se observa una sola mancha, con trazas de impurezas.

Diclorhidrato de p-fenilendiamina - Ver Clorhidrato de p-fenilendiamina.

Diclorhidrato de hidracina - $(NH_2)_2 \cdot 2HCl$ - (PM: 105,0) - Polvo blanco.

Valoración - Disolver aproximadamente 34 mg, exactamente pesados, en 50 ml de agua. Agregar cuidadosamente con agitación, 1 g de bicarbonato de sodio. *Precaución* - *Se puede producir una rápida liberación de dióxido de carbono*. Titular con solución de yodo 0,1 N determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de solución de yodo 0,1 N equivale a 2,63 mg de $(NH_2)_2 \cdot 2HCl$. Contiene no menos de 98 %.

Diclorhidrato de N-(1-Naftil)etilendiamina - $C_{10}H_7NH(CH_2)_2NH_2 \cdot 2HCl$ - (PM: 259,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Diclorhidrato de piridoxamina - (PM: 241,1) $C_8H_{12}N_2O_2 \cdot 2HCl$ - Cristales o polvo

crystalino de color blanco o amarillo. Se oscurece gradualmente por exposición al aire o luz solar. 1 g se disuelve en aproximadamente 1 ml de agua y en aproximadamente 60 ml de alcohol. Insoluble en cloroformo y éter. Sus soluciones son ácidas.

Intervalo de fusión <260> - Entre 225 y 230 °C, con descomposición.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,15 %.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105°C durante 2 horas: no pierde más de 0,5 % de su peso.

Contenido de nitrógeno (Ensayo para reactivos) - Determinar por el método de Kjeldahl, empleando una muestra previamente secada a 105 °C durante 2 horas. Contiene entre 11,3 y 11,8 % de N.

Contenido de cloruro - Proceder según se indica en el ensayo para *Contenido de cloruro en Clorhidrato de piridoxal*. Contiene entre 29,1 y 29,6 % de Cl.

2,5-Dicloroanilina - $\text{Cl}_2\text{C}_6\text{H}_3\text{NH}_2$ - (PM: 162,0) - Cristales blancos en forma de agujas. Poco soluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Intervalo de fusión <260> - *Método I*. Entre 49 y 50 °C.

2,6-Dicloroanilina - $\text{C}_6\text{H}_3\text{Cl}_2\text{N}$ - (PM: 162,0) - Polvo casi blanco.

Intervalo de fusión <260> - Entre 38 y 41 °C.

o-Diclorobenceno - $\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl}_2$ - (PM: 147,0) - Líquido transparente, de color pardo amarillento claro y olor aromático. Prácticamente insoluble en agua. Miscible con alcohol y éter. Hierve aproximadamente a 180 °C.

Valoración - Cuando se analiza por cromatografía gas-líquido (ver 100. *Cromatografía*) empleando un cromatógrafo de gases y condiciones apropiadas, presenta una pureza no menor a 98 %.

Densidad relativa <160> - Entre 1,299 y 1,301.

Índice de refracción - Entre 1,548 y 1,550, a 25°C.

Residuo de evaporación - Evaporar 80 ml en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 50 mg (0,005 %).

Acidez - Agregar fenoltaleína (SR) a 25 ml de metanol y titular con hidróxido de potasio alcohólico 0,02 N (SV) hasta un color rosado suave persistente durante 15 segundos. Transferir 25 ml de muestra a la solución, mezclar, evitar la exposición a la atmósfera y titular con hidróxido de potasio alcohólico 0,02 N (SV). No se requieren más de 2,2 ml para restaurar el color rosado (aproximadamente 0,005 %).

1,2-Dicloroetano - Ver Dicloruro de etileno.

2,6-Diclorofenol-indofenol sódico - (2,6-Dicloroindofenol sódico) - $\text{O}:\text{C}_6\text{H}_2\text{Cl}_2:\text{NC}_6\text{H}_4\text{ONa}$

con aproximadamente $2\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 290,1, anhidro) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Diclorofluoresceína - $\text{C}_{20}\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{O}_5$ - (PM: 401,2) - [NOTA: esta especificación es tanto para el isómero 4,5 como para el 2,7 de diclorofluoresceína; el que sea apropiado para la preparación de diclorofluoresceína (SR).] Polvo cristalino de color anaranjado débil. Moderadamente soluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones de hidróxidos alcalinos.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 200 mg con 5 gotas de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,5 %).

Sensibilidad - Disolver 100 mg en 60 ml de alcohol, agregar 2,5 ml de hidróxido de sodio 0,1 N y diluir con agua a 100 ml. Agregar 1 ml de esta solución a una solución de yoduro de potasio preparada disolviendo 100 mg de yoduro de potasio, previamente secados a 105 °C hasta peso constante y exactamente pesados, en 50 ml de agua que contienen 1 ml de ácido acético glacial y titular con nitrato de plata 0,1 N (SV) hasta que el color del precipitado cambie de anaranjado amarillento pálido a rosado. El volumen de nitrato de plata 0,1 N consumido no es más de 0,10 ml mayor que el volumen calculado en base al contenido de KI de la muestra seca determinado en la *Valoración en Yoduro de potasio*.

Diclorofluorometano - CHCl_2F - (PM: 102,9) - Gas incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de conductividad térmica y una columna capilar de 30 m × 0,53 mm recubierta con una capa de 5 μm de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a 200 °C. La temperatura de la columna se mantiene a 0 °C y se programa un ascenso de 5 °C por minuto hasta alcanzar 40 °C y luego un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 180 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de CHCl_2F no es menor de 98 % del área total.

Diclorometano - Ver Cloruro de metileno.

2,4-Dicloro-1-naftol - $\text{C}_{10}\text{H}_6\text{OCl}_2$ - (PM: 213,1) Polvo color pardo brillante.

Intervalo de fusión <260> - Entre 103 y 107 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 2 °C.

2,6-Dicloroquinona-clorimida - (2,6-Dicloro-N-cloro-p-benzoquinona imina) -

O: $C_6H_2Cl_2:NCl$ - (PM: 210,4) - Polvo cristalino amarillo pálido. Insoluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones de hidróxidos alcalinos diluidos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 65 y 67 °C.

Solubilidad en alcohol - Una solución de 100 mg en 10 ml de alcohol es completa y transparente.

Residuo de ignición - Someter a ignición 500 mg con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,2 %).

Sensibilidad - Cumple con los requisitos del ensayo para *Sensibilidad* en 2,6-Dibromoquinonaclorimida.

Dicloruro de etileno - (1,2-Dicloroetano) - (PM: 99,0) - $C_2H_4Cl_2$ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Dicromato de potasio - $K_2Cr_2O_7$ - (PM: 294,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Dicromato de sodio - (Para la preparación de mezcla sulfocrómica para limpieza de materiales de vidrio) - $Na_2Cr_2O_7 \cdot 2H_2O$ - (PM: 298,0) - Cristales o gránulos de color rojo anaranjado. Muy soluble en agua; insoluble en alcohol.

Dietilacetil de dimetilformamida - $C_7H_{17}NO_2$ - (PM: 147,2) - *N,N*-dimetilformamida-dietilacetil. Punto de ebullición entre 128 y 130 °C. Índice de refracción: aproximadamente 1,40.

Dietilamina - $(C_2H_5)_2NH$ - (PM: 73,1) - Líquido incoloro, inflamable, altamente alcalino. Miscible con agua y alcohol. Forma un hidrato con agua. *Precaución* - Puede ser irritante para la piel y mucosas. Almacenar en envases bien cerrados.

Valoración - A 50 ml de agua agregar 6 a 8 gotas de un indicador recientemente preparado (mezclando 5 partes de una solución (1 en 1000) de verde de bromocresol en metanol con 1 parte de una solución (1 en 1000) de rojo de metilo en metanol) y neutralizar con ácido clorhídrico 0,1 N hasta la desaparición del color verde. Transferir aproximadamente 2 g de muestra, exactamente pesados, a un erlenmeyer con tapón de vidrio, previamente pesado, de 250 ml que contiene un poco ml del agua neutralizada. Agregar el resto del agua neutralizada y titular con ácido clorhídrico 1 N (SV) hasta la desaparición del color verde. Cada mililitro de ácido clorhídrico 1 N equivale a 73,1 mg de $(C_2H_5)_2NH$. Contiene no menos de 99,0%.

Densidad relativa <160> - Entre 0,700 y 0,705.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 55 y 58 °C.

Residuo después de la evaporación - Evaporar 14 ml (10 g) en un cristizador en un baño de vapor hasta sequedad, secar a 105 °C durante 1 hora,

enfriar y pesar: el peso del residuo no es mayor de 1,0 mg (0,010 %).

Sustancias insolubles en agua - Transferir 25 ml a un erlenmeyer de 125 ml y agregar 25 ml de agua en porciones de 5 ml, agitando bien luego de cada agregado. Agregar otros 25 ml de muestra a 25 ml de agua de la misma manera. En ningún caso se produce oscurecimiento o turbidez.

***N,N*-Dietilanilina** - $C_6H_5N(C_2H_5)_2$ - (PM: 149,2) - Líquido amarillo claro a ámbar.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada (aproximadamente 0,2 μ l) en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,8 m \times 3 mm recubierta por una fase estacionaria constituida por un compuesto de polietilenglicol al 20 % (p.m.p aproximadamente 15.000 [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido]) sobre un soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases, la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector y el detector a 250 y 310 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 140 °C y se programa un ascenso de 6 °C por minuto hasta alcanzar 200 °C. Se emplea helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 40 ml por minuto. El tiempo de retención para la *N,N*-dietilanilina es de aproximadamente 4,9 minutos y el área del pico no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,5405 y 1,5425, a 20 °C.

Dietilditiocarbamato de plata - $(C_2H_5)_2NCS_2Ag$ (PM: 256,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Dietilditiocarbamato de sodio - (PM:225,3) $(C_2H_5)_2NCS_2Na \cdot 3H_2O$ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Dietilenglicol - $C_4H_{10}O_3$ - (PM: 106,1) - Líquido incoloro a débilmente amarillo, viscoso e higroscópico, con olor leve. Miscible con agua, alcohol, éter y acetona. Insoluble en tetracloruro de carbono.

Densidad relativa <160> - Entre 1,117 y 1,120, a 20 °C.

Intervalo de destilación <240> - Entre 240 y 250 °C.

Acidez - Transferir 54 ml (60 g) a un erlenmeyer de 250 ml, agregar fenolftaleína (SR) y titular con hidróxido de potasio alcohólico 0,02 N (SV) hasta color rosado estable durante no menos de 15 segundos. No se requieren más de 2,5 ml (0,005 % como CH₃COOH).

Agua <120> - No más de 0,2 %.

Residuo de ignición <270> - Transferir 50 g a una cápsula de platino, previamente pesada, calentar la cápsula suavemente hasta que los vapores se enciendan y la muestra se queme completamente. Someter a ignición el residuo a 800 ± 25 °C, enfriar y pesar: el residuo no pesa más de 2,5 mg (0,005 %).

Dietilenglicol succinato poliéster - (OCH₂CH₂OCH₂CH₂OOCCH₂CH₂COO)_n - Líquido transparente, viscoso. Soluble en cloroformo. Es estabilizado mediante modificación del poliéster succinato de dietilenglicol, haciéndolo apropiado para emplear en cromatografía gas-líquido a una temperatura de 200 °C.

Dietilentriamina - C₄H₁₃N₃ - (PM: 103,2) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m × 0,25 mm recubierta con una fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a 200 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 100 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 250 °C, manteniendo esta temperatura durante 5 minutos. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico principal no es menor de 95 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,4815 y 1,4845, a 20 °C.

Di(2-etilhexil)ftalato - (*Bis (2-etilhexil) ftalato*) - C₂₄H₃₈O₄ - (PM: 390,6) - Emplear uno de grado apropiado.

Difenilamina - (C₆H₅)₂NH - (PM: 169,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Difenilantraceno - (*9,10-Difenilantraceno*) - C₂₆H₁₈ - (PM: 330,4) - Polvo cristalino, amarillo o amarillento. Fácilmente soluble en éter; prácticamente insoluble en agua.

Punto de fusión <260> - Aprox. a 248 °C.

Difenilborinato de 2-aminoetilo - (Aminoetil-difenilborinato) - C₁₄H₁₆BNO - (PM: 225,1) - Polvo cristalino blanco.

Intervalo de fusión <260> - Entre 192 y 194 °C.

Difenilcarbazida - (C₆H₅NHNH)₂CO - (PM: 242,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Difenilcarbazona - (*Difenilcarbazona con s-difenilcarbazida (1:1)*) - (PM: 482,6) - C₆H₅NHNHCON:NC₆H₅.C₆H₅NHNHCONHNH C₆H₅ Emplear un reactivo analítico apropiado.

Difenil éter - (*Éter de fenilo*) - (C₆H₅)₂O - (PM: 170,2) - Líquido incoloro. Insoluble en agua; soluble en ácido acético glacial y la mayoría de los solventes orgánicos. Hierve aproximadamente a 259 °C.

Intervalo de fusión <260> - Entre 26 y 28 °C.

2,2-Difenilglicina - C₁₄H₁₃NO₂ - (PM: 227,3) - Polvo casi blanco. Funde aproximadamente a 244 °C, con descomposición.

Valoración - Disolver aproximadamente 115 mg, exactamente pesados, en 30 ml de metanol. Lentamente agregar aproximadamente 20 ml de agua, calentando suavemente, si fuera necesario, para disolver completamente. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 22,73 mg de C₁₄H₁₃NO₂. Contiene no menos de 98,0 %.

Digerido pancreático de caseína (peptona bacteriológica) - (*Triptona*) - Polvo amarillo grisáceo, de olor característico pero no pútrido. Fácilmente soluble en agua; insoluble en alcohol y en éter. La caseína empleada en la preparación de este digerido debe reunir las siguientes especificaciones:

Residuo de ignición - No más de 2,5 %.

Pérdida por secado - No más de 8 %.

Ácido libre (como ácido láctico) - No más de 0,25 %.

Grasa - No más de 0,5 %.

Azúcares reductores - Trazas.

Finura - Todo debe pasar a través de un tamiz N° 20.

Grado de digestión - Disolver 1 g en 10 ml de agua y emplear esta solución para los siguientes ensayos:

(a) Cubrir 1 ml de la solución de digestión con 0,5 ml de una solución de 1 ml de ácido acético glacial en 10 ml de alcohol diluido: ningún anillo o precipitado se forma en la unión de los dos líquidos y cuando se agita no se produce turbidez

(indicando la ausencia de caseína no digerida).

(b) Mezclar 1 ml de solución de digestión con 4 ml de una solución saturada de sulfato de cinc: se forma una cantidad moderada de precipitado (indicando la presencia de proteosas). Filtrar y retener el filtrado.

(c) A 1 ml del filtrado del ensayo anterior, agregar 3 ml de agua y a continuación 1 gota de bromo (SR): se produce un color rojo violeta (indicando de la presencia de triptofano).

Compuestos nitrogenados (Ensayo para reactivos) - Determinar por el método de Kjeldahl, empleando una muestra previamente secada a 105 °C hasta peso constante. Contiene no menos de 10,0 %.

Pérdida por secado <680> - Secar a 100 °C hasta peso constante: no pierde más de 7,0 % de su peso.

Residuo de ignición <270> - Someter a ignición 500 mg con 1 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 75 mg (15 %).

Nitrito - A 5 ml de una solución del digerido (1 en 50) agregar 0,5 ml de sulfanílico- α -naftilamina (SR), mezclar y dejar reposar durante 15 minutos: no se desarrolla color rosado o rojo.

Contenido microbiano - Disolver 1 g en 10 ml de agua. Difundir 0,01 ml en 1 cm² de un portaobjetos de vidrio. Teñir por el método de Gram y examinar con una lente de inmersión en aceite: no más de un total de 50 microorganismos o agregados, son visibles en 10 campos consecutivos.

Ensayo bacteriológico - El digerido cumple con los siguientes ensayos para propiedades de nutrientes bacterianos. Preparar medios de las siguientes composiciones:

(a) 2 % de digerido, en agua;

(b) 0,1 % de digerido, en agua;

(c) 1 % de digerido, 0,5 % de cloruro de sodio, 0,5 % de dextrosa, en agua;

(d) 1 % de digerido, en agua;

(e) 2 % de digerido, 0,5 % de cloruro de sodio, 1,5% de agar, en agua.

Ajustar todos los medios a pH 7,2 a 7,4.

Ausencia de carbohidratos fermentables - Al medio (a) agregar rojo de fenol (SR) suficiente para dar un color apreciable, colocar en tubos de fermentación de Durham y esterilizar en autoclave. Inocular con un cultivo de 24 horas de *Escherichia coli*: no se produce ácido o sólo una traza en la recámara y no se produce ningún gas durante la incubación por 48 horas.

Producción de indol - Inocular 5 ml del medio (b) con *Escherichia coli*, incubar durante 24 horas y agregar aproximadamente 0,5 ml de *p*-dimetilaminobenzaldehído (SR): se observa un

color rosado o rojo característico que es soluble en cloroformo.

Producción de acetilmetilcarbinol - Inocular 5 ml del medio (c) con *Aerobacter aerogenes* e incubar durante 24 horas. Agregar al cultivo un volumen igual de solución de hidróxido de sodio (1 en 10), agitar y dejar reposar a temperatura ambiente durante varias horas: la aparición de color rosado indica la presencia de acetilmetilcarbinol.

Producción de sulfuro de hidrógeno - Inocular 5 ml de medio (d) con *Salmonella typhosa*. Mantener una tira de papel de acetato de plomo entre el tapón de algodón y la boca del tubo de ensayo para que cuelgue aproximadamente 5 cm encima del medio. Luego de incubar durante 24 horas, la punta inferior del papel de acetato de plomo presenta poco o ningún oscurecimiento. Luego de 48 horas, presenta una cantidad apreciable de ennegrecimiento pardusco (que indica la formación de sulfuro de plomo).

Propiedades que favorecen el crecimiento - En los ensayos previos los medios producen buen desarrollo de *Escherichia coli*, *Aerobacter aerogenes* y *Salmonella typhosa*. El medio (e) inoculado por picadura con un cultivo madre *Brucella abortus* presenta buen desarrollo en la línea de siembra luego de 48 horas de incubación. El medio (e) preparado en forma inclinada, inoculado con *Escherichia coli*, *Aerobacter aerogenes*, *Salmonella typhosa*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus albus*, presenta desarrollo característico luego de incubar durante 24 horas. El medio (e) al que se le ha agregado aproximadamente 5 % de sangre de ovino o sangre de conejo y que se ha inoculado y vertido en placas de petri, presenta zonas características alfa o beta cerca de las colonias de *neumococos* y *estreptococo beta hemolítico* (grupos serológicos A y B) reconocible dentro de 24 horas y plenamente desarrollado luego de incubar durante 48 horas. El medio (e) al que se le ha agregado aproximadamente 10 % de sangre y el cual luego ha sido calentado de 80 a 90 °C hasta que la sangre se torna de color chocolate pardo, permite el crecimiento de colonias de *gonococos* dentro de 48 horas cuando se incuba en una atmósfera conteniendo aproximadamente 10 % de dióxido de carbono.

Digerido papáinico de harina de soja - Material nutritivo soluble preparado por la acción de la enzima papaína sobre la harina de soja seguido de purificación y concentración apropiada. Cumple las especificaciones dadas en *Digerido pancreático de caseína*, excepto en lo que se refiere a *Compuestos nitrogenados* y en

que presenta cantidades importantes de azúcares reductores. Contiene carbohidratos fermentables y da positivo el ensayo para indol, acetilmetilcarbinol y sulfuro con inoculación e incubación con los microorganismos especificados.

Compuestos nitrogenados (Ensayo para reactivos) Determinar por el método Kjeldahl, empleando una muestra previamente secada a 105 °C hasta peso constante. Contiene no menos de 8,5 %.

Digerido péptico de tejido animal (peptona bacteriológica) - Polvo color pardo, de olor característico pero no pútrido. Soluble en agua; insoluble en alcohol y éter. Una solución (2 en 100) esterilizada en autoclave es transparente y posee reacción neutra o casi neutra.

Grado de digestión - Disolver 1 g en 10 ml de agua y emplear esta solución para los siguientes ensayos:

- (a) Cubrir 1 ml de la solución digerida con 0,5 ml de una solución de 1 ml de ácido acético glacial en 10 ml de alcohol diluido: no se forma ningún anillo precipitado en la unión de los dos líquidos y al agitar no se produce turbidez (indicando la ausencia de proteína no digerida).
- (b) Mezclar 1 ml de la solución digerida con 4 ml de sulfato de cinc saturado: se forma una cantidad pequeña de precipitado (indicando la presencia de proteosas). Filtrar y retener el filtrado.
- (c) A 1 ml del filtrado anterior agregar 1 gota de bromo (SR): el cambio de color amarillo claro a rojo pardo indica la presencia de triptofano.

Compuestos nitrogenados, Pérdida por secado, Residuo de ignición y Nitrito - Proceder según se indica en *Digerido pancreático de caseína*.

Contenido microbiano - Disolver 1 g en 10 ml de agua. Difundir 0,01 ml en 1 cm² de un portaobjetos de vidrio. Teñir por el método de Gram y examinar con una lente de inmersión en aceite: no más de 50 microorganismos o agregados, son visibles en 10 campos consecutivos.

Ensayo bacteriológico - Cumple los siguientes ensayos para propiedades de nutriente bacteriano. Preparar medios de las siguientes composiciones:

- (a) 2 % de digerido y rojo de fenol (SR) suficiente para dar un color perceptible en agua;
- (b) 0,1 % de digerido en agua;
- (c) 0,1 % de digerido y 0,5 % de dextrosa en agua;
- (d) 1 % de digerido en agua.

Ajustar todos los medios a pH de 7,2 a 7,4. Transferir 5 ml de (a) a tubos de fermentación de Durham y 5 ml de (b), (c) y (d) a tubos de ensayo. Esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minu-

tos. Luego de 24 horas en reposo todos los medios permanecen transparentes.

Presencia de carbohidratos fermentables - Inocular medio (a) con *Escherichia coli* y con *Streptococcus liquefaciens*: el ácido es producido por *E. coli* pero no por *S. liquefaciens* luego de incubar durante 24 horas.

Producción de indol - Inocular medio (b) con *Escherichia coli* y con *Aerobacter aerogenes* e incubar durante 24 horas. Agregar aproximadamente 0,5 ml de *p*-dimetilaminobenzaldehído (SR): la aparición de un color rosado o rojo (soluble en cloroformo) indica la producción de indol por *E. coli*. El cultivo de *A. aerogenes* da resultado negativo.

Producción de acetilmetilcarbinol - Inocular medio (c) con *Escherichia coli* y con *Aerobacter aerogenes* e incubar durante 24 horas. Agregar al cultivo un volumen igual de solución de hidróxido de sodio (1 en 10), agitar y dejar reposar a temperatura ambiente durante varias horas: la aparición de un color rosado indica la producción de acetilmetilcarbinol por *A. aerogenes*. El cultivo de *E. coli* da resultado negativo.

Producción de sulfuro de hidrógeno - Inocular medio (d) con *Salmonella typhosa*. Colocar una tira de papel de acetato de plomo entre el tapón de algodón y la boca del tubo de ensayo para que cuelgue aproximadamente 5 cm encima del medio. Luego incubar durante 24 horas: la parte inferior del papel de acetato de plomo presenta un ennegrecimiento apreciable (indica la formación de sulfuro de plomo).

Digitonina - C₅₆H₉₂O₂₉ - (PM: 1.229,3) - Polvo blanco, cristalino. Practicamente insoluble en agua; soluble en alcohol caliente, ácido acético glacial y ácido acético al 75 %; insoluble en cloroformo y éter. Funde aproximadamente a 230 °C, con descomposición.

Rotación específica <170> - Entre - 47° y - 49°, determinado en una solución de ácido acético al 75 % conteniendo 100 mg por ml.

Solubilidad en alcohol - Una solución de 500 mg en 20 ml de alcohol caliente es incolora y completa.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 6 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,3 %.

Digoxigenina - C₂₃H₃₄O₅ - (PM: 390,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

10,11-Dihidrocarbamecina - C₁₅H₁₄N₂O - (PM: 238,3) - Cristales blancos.

Valoración - Cuando es ensayada por cromatografía en capa delgada, con el empleo de placas recubiertas con gel de sílice para cromatografía, con el uso de una fase móvil preparada con tolueno y metanol (80:20) y es examinada visualmente bajo luz ultravioleta a 366 nm: es observada una única mancha.

Diiodofluoresceína - $C_{20}H_{10}I_2O_5$ - (PM: 584,1) - Polvo inodoro rojo anaranjado. Poco soluble en agua; soluble en alcohol y soluciones de hidróxidos alcalinos.

Residuo de ignición - Someter a ignición 200 mg con 5 gotas de ácido sulfúrico: el peso del residuo no es mayor a 1,0 mg (0,5 %).

Sensibilidad - Disolver aproximadamente 100 mg de ioduro de potasio, exactamente pesados y previamente secados a 105 °C hasta peso constante, en 50 ml de agua. Agregar 1 ml de solución de diiodofluoresceína (SR) preparada con la muestra y 1 ml de ácido acético glacial y titular con nitrato de plata 0,1 N (SV) hasta que el precipitado cambie de color rojo pardusco a rojo azulado. El volumen de nitrato de plata 0,1 N consumido no es más de 0,10 ml mayor del volumen calculado en base al contenido de KI del ioduro de potasio seco determinado del siguiente modo. Disolver aproximadamente 500 mg de ioduro de potasio, exactamente pesados, en aproximadamente 10 ml de agua y agregar 35 ml de ácido clorhídrico y 5 ml de cloroformo. Titular con iodato de potasio 0,05 M (SV) hasta que el color púrpura del yodo desaparezca del cloroformo. Agregar las últimas porciones de la solución de iodato, gota a gota, agitando en forma vigorosa y continua. Luego que se haya decolorado el cloroformo, dejar reposar la mezcla durante 5 minutos. Si el cloroformo desarrolla un color púrpura, continuar titulando con la solución de iodato. Cada ml de iodato de potasio 0,05 M equivale a 16,60 mg de KI.

Diisodecil ftalato - (*Bis (isodecil) ftalato*) - $C_{28}H_{46}O_4$ - (PM: 446,7) - Emplear uno de grado apropiado.

Diisopropilamina - $[(CH_3)_2CH]_2NH$ - (PM: 101,2) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,83 m × 3,2 mm con un soporte de poliestireno entrecruzado. Mantener el inyector y el detector a 250 y 310 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se programa para aumentar 10 °C por minuto de 50 a 220 °C. Contiene no menos de 98 % de $C_6H_{15}N$.

Índice de refracción - Entre 1,3915 y 1,3935, a 20 °C.

Diisopropil éter (Éter isopropílico) - (PM: 102,2) $[(CH_3)_2CH]_2O$ - Líquido incoloro, móvil. Poco soluble en agua. Miscible con alcohol y éter.

Precaución - Altamente inflamable. No evaporar hasta sequedad, ya que tiende a formar peróxidos explosivos.

Densidad relativa - Entre 0,716 y 0,720.

Intervalo de destilación <240> - Método II. No menos de 95 % destila entre 65 y 70 °C.

Peróxidos - A 10 ml, contenidos en una probeta limpia, con tapón de vidrio previamente lavada con una porción del éter bajo ensayo, agregar 1 ml de solución de ioduro de potasio recientemente preparada (1 en 10). Agitar y dejar reposar durante 1 minuto: no se observa color amarillo en ninguna de las fases (aproximadamente 0,001 % como H_2O_2).

Residuo de evaporación - [NOTA: si hay peróxidos presentes, no llevar a cabo este procedimiento.] Evaporar 14 ml (10 g) en un cristallizador, previamente pesado, y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 1 mg (0,01 %).

Acidez - Agregar 2 gotas de azul de bromotimol (SR) a 10 ml de agua en un erlenmeyer de 50 ml con tapón de vidrio y titular con hidróxido de sodio 0,010 N hasta que el color azul persista luego de agitar vigorosamente. Agregar 5 ml de diisopropil éter y titular con hidróxido de sodio 0,010 N. No se requieren más de 0,30 ml para restaurar el color azul (0,005 % como CH_3COOH).

[NOTA: para determinaciones espectrofotométricas, emplear diisopropil éter que cumple con el siguiente requisito adicional:

Absorbancia - La absorbancia a 255 nm, en una celda de cuarzo de 10 mm, empleando agua como blanco, no es mayor de 0,2]

Diisopropiletilamina - (PM: 129,2) - $C_8H_{19}N$ - (*N,N*-Diisopropiletilamina) - Líquido transparente, incoloro. Soluble en ácido acético glacial.

Valoración - Disolver aproximadamente 500 mg, exactamente pesados, en 50 ml de ácido acético glacial, mezclar, agregar cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV). Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 12,92 mg de $C_8H_{19}N$. Contiene no menos de 98 %.

Índice de refracción - Entre 1,4125 y 1,4145, a 20 °C.

N,N-Diisopropiletildiamina - (*N-Etil*diisopropilamina) - (PM: 129,3) -

$[(\text{CH}_3)_2\text{CH}]_2\text{NC}_2\text{H}_5$ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

***N,N*-Dimetilacetamida** - $\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}$ - (PM: 87,1) - Líquido transparente, incoloro. Miscible con agua y solventes orgánicos.

Valoración - Cuando se analiza por cromatografía gas-líquido (ver 100. *Cromatografía*) empleando un cromatógrafo de gases y condiciones apropiadas, presenta una pureza no menor a 99 %.

Intervalo de destilación <240> - Entre 164,5 y 167,5 °C.

Residuo de evaporación - Evaporar 215 ml en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 2 mg (0,001 %).

pH de una solución al 20 % - Transferir 20 g, exactamente pesados, a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua: la solución presenta un pH entre 4,0 y 7,0.

Absorbancia ultravioleta - Determinar la absorbancia en una celda de 1 cm, entre 270 y 400 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando agua como blanco: la absorbancia no es mayor de 1,00 a 270 nm; 0,30 a 280 nm; 0,15 a 290 nm; 0,05 a 310 nm; 0,03 a 320 nm y 0,01 de 360 a 400 nm.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 0,05 %.

***p*-Dimetilaminoazobenceno** - (*Amarillo de metilo*) - $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}:\text{NC}_6\text{H}_4\text{N}(\text{CH}_3)_2$ - (PM: 225,3) - Escamas amarillas o polvo cristalino amarillo. Insoluble en agua; moderadamente soluble en cloroformo, éter y aceites grasos.

Solubilidad - Disolver 100 mg en 20 ml de alcohol: la disolución es completa o prácticamente completa y la solución resultante es transparente.

Intervalo de fusión <260> - Entre 115 y 117 °C.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,1 %.

Sensibilidad - Agregar 0,05 ml de una solución de alcohol (1 en 200) y 2 g de cloruro de amonio a 25 ml de agua: el color amarillo limón de la solución cambia a anaranjado por el agregado de 0,05 ml de ácido clorhídrico 0,1 N y se restaura por el agregado posterior de 0,05 ml de hidróxido de sodio 0,1 N.

***p*-Dimetilaminobenzaldehído** - (PM: 149,2) - $(\text{CH}_3)_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{CHO}$ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

***p*-Dimetilaminocinamaldehído** - (PM: 175,2) - $(\text{CH}_3)_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{CH}:\text{CHCHO}$ - Polvo amarillo anaranjado. Soluble en acetona y alcohol.

Intervalo de fusión <260> - Entre 132 y 136 °C.

Dimetilaminofenol (isómero meta) - $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}$ - (PM: 137,2) - Sólido cristalino de color negro, púrpura, gris o canela.

Intervalo de fusión <260> - Entre 83 y 85 °C.

2,6-Dimetilanilina - $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{N}$ - (PM: 121,2) - Líquido amarillo.

Índice de refracción <230> - 1,560, a 20 °C.

***N,N*-Dimetililanilina** - $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}(\text{CH}_3)_2$ - (PM: 121,2) Líquido amarillo brillante, transparente e incoloro cuando está recientemente destilado pero luego adquiere un color rojizo a pardo rojizo. Densidad relativa: aproximadamente 0,960. Punto de congelación: aproximadamente 2 °C. Insoluble en agua; soluble en alcohol, cloroformo, éter y ácidos minerales diluidos.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada (aproximadamente 0,2 μl) en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,8 m \times 3 mm con fase estacionaria constituida por un compuesto de polietilenglicol al 20 % (p.m.p aproximadamente 15.000 [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido]) sobre soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el inyector y el detector a 250 y 310 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 50 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 200 °C. Se emplea helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 40 ml por minuto. El tiempo de retención para la *N,N*-Dimetililanilina es de aproximadamente 11,5 minutos y el área del pico no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,5571 y 1,5591, a 20 °C.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Destilar 100 ml: la diferencia entre las temperaturas observadas cuando han destilado 1 ml y 95 ml, no es mayor de 2,5 °C. La temperatura de ebullición a una presión de 760 mm Hg es 194,2 °C.

Hidrocarburos - Disolver 5 ml en una mezcla de 10 ml de ácido clorhídrico y 15 ml de agua: se obtiene una solución transparente que permanece así cuando se enfría cerca de 10 °C.

Anilina o monometilanilina - Transferir 5 ml a un erlenmeyer con tapón de vidrio, agregar 5 ml de una solución de anhídrido acético en benceno (1 en 10), mezclar y dejar reposar durante 30 minutos. Agregar 30,0 ml de hidróxido de sodio 0,5 N (SV), agitar la mezcla, agregar fe-

nolftaleína (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,5 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. No se requieren más de 0,30 ml de hidróxido de sodio 0,5 N.

3,4-Dimetilbenzofenona - $C_{15}H_{14}O$ - (PM: 210,3) - Trozos blancos que funden a 45 °C.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m × 0,25 mm recubierta con fase estacionaria constituida por aceite de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a 300 °C. La temperatura de la columna se mantiene a 180 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 280 °C y se mantiene a esa temperatura durante 10 minutos. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico principal no es menor de 99 % del área total.

5,5-Dimetil-1,3-ciclohexanodiona - $C_8H_{12}O_2$ - (PM: 140,2) - Sólido blanco, cristalino. Poco soluble en agua; soluble en alcohol, metanol, cloroformo y ácido acético.

Intervalo de fusión <260> - Entre 148 y 150 °C.

Dimetil estearilamida - $C_{20}H_{41}NO$ - (PM: 327,5) - (*N,N*-Dimetil estearilamida) - Masa sólida, blanca o casi blanca. Soluble en numerosos solventes orgánico, incluyendo acetona. Punto de fusión: aproximadamente 51 °C.

1,1-Dimetiletilamina - $C_2H_5N(CH_3)_2$ - (PM: 73,1). Emplear un reactivo analítico apropiado.

2,6-Dimetilfenol - $(CH_3)_2C_6H_3OH$ - (PM: 122,2) Sólido cristalino blanco a amarillo pálido.

Valoración - Inyectar una solución (1 en 3) en xileno en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,83m × 3,2 mm con una fase estacionaria constituida por un compuesto de polietilenglicol TPA al 10 % [NOTA: un compuesto de alto peso molecular de un polietilenglicol y un diepóxido que se esterifica con ácido tereftálico], sobre un soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C. [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 250 y 310 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se

programa para aumentar 8 °C por minuto de 100 a 200 °C. Se emplea helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 40 ml por minuto. En forma similar inyectar una alícuota de xileno. El área del pico $C_8H_{10}O$ no es menor de 98 % del área total corregida por el pico de xileno.

Intervalo de fusión <260> - Entre 44 y 46 °C.

Dimetilformamida - (*N,N*-dimetilformamida) - $HCON(CH_3)_2$ - (PM: 73,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Dimetilglioxima - (*2,3-Butanodiona dioxima*) - $C_4H_8N_2O_2$ - (PM: 116,1) - Polvo cristalino blanco o cristales incoloros, solubles en alcohol y éter, muy poco solubles en agua en ebullición, prácticamente insolubles en agua fría.

Punto de fusión <260> - Aprox. a 240 °C, con descomposición.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,05 %.

***N,N*-Dimetil-1-naftilamina** - $C_{12}H_{13}N$ - (PM: 171,2) - Líquido amarillo pálido a amarillo, aromático. Soluble en alcohol y éter.

Valoración - Transferir aproximadamente 250 mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados, agregar 100 ml de ácido acético glacial y disolver mediante agitación. Cuando la disolución sea completa, titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 17,12 mg de $C_{12}H_{13}N$. Contiene no menos de 98 %.

Índice de refracción - Entre 1,6210 y 1,6230, a 20 °C, empleando luz de sodio.

Ensayo de sulfanilamida - Disolver 20 mg de *Sulfanilamida SR-FA* en 100 ml de agua para obtener la *Solución de sulfanilamida*. Transferir a dos vasos de precipitados de 150 ml, 1,0 ml y 2,5 ml de la *Solución de sulfanilamida*, respectivamente. Diluir con agua a 90 ml. Transferir 90 ml de agua a un tercer vaso de precipitados que se empleará como blanco. A cada vaso de precipitados agregar 8,0 ml de solución de ácido tricloroacético (3 en 20) y 1,0 ml de solución de nitrito de sodio (1 en 1000). Agitar las soluciones durante 5 minutos, agregar 10 ml de solución reguladora de acetato (SR) y 1,0 ml de una solución (1 en 1.000) de *N,N*-dimetil-1-naftilamina en alcohol. El pH es aproximadamente de 5 a 6, empleando papel de pH. Agitar durante un periodo adicional de 5 minutos y agregar 20 ml de ácido acético glacial. El pH es

aproximadamente de 3 a 4, empleando papel de pH. Comparando con el blanco, el vaso de precipitados que contiene 1,0 ml de la *Solución de sulfanilamida* presenta color rosado, mientras que el otro vaso de precipitados presenta un color rosa profundo a rojo.

***N,N*-Dimetiloctilamina** - $C_{10}H_{23}N$ - (PM: 157,3) - Líquido incoloro.

Índice de refracción <230> - 1,4243, a 20 °C.

2,2-Dimetil-2-silapentano-5-sulfonato de sodio - Ver 3-(trimetilsilil)-1-propano sulfonato de sodio.

Dimetiltetradecilamina - $C_{16}H_{35}N$ - (PM: 241,5) (*N,N*-Dimetiltetradecilamina) - Líquido transparente o casi transparente, incoloro o casi incoloro, prácticamente insoluble en agua; miscible con acetona, alcohol y metanol. Contiene no menos de 98,0 por ciento y no más de 101,0 por ciento de $C_{16}H_{35}N$.

Densidad relativa <160> - Aprox. 0,80, a 20 °C.

Intervalo de destilación - Aprox. a 260 °C.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 0,3 %.

Valoración - Disolver 200 mg de dimetiltetradecilamina en 10 ml de alcohol. Titular con ácido clorhídrico 0,1 N en presencia de 0,1 ml de rojo de metilo (SR) hasta coloración roja. Cada mililitro de ácido clorhídrico 0,1 N equivale a 24,15 mg de $C_{16}H_{35}N$.

Dimetilsulfona - (*Metilsulfona*) - $(CH_3)_2SO_2$ - (PM: 94,1) - Cristales blancos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 109 y 111 °C.

Dimetilsulfóxido - Ver Metilsulfóxido.

Dimetilsulfóxido grado espectrofotométrico - Emplear metilsulfóxido que cumple las siguientes especificaciones adicionales:

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada (aproximadamente 0,1 μ l) en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de conductividad térmica y una columna de vidrio 2 m \times 3 mm con una fase estacionaria constituida por un compuesto de polietilenglicol al 20% (p.m.p aproximadamente 15.000 [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido]) en un soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 180 °C. La colum-

na se mantiene aproximadamente a 95 °C. Se emplea helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 50 ml por minuto. El área del pico simétrico del dimetilsulfóxido no es menor de 99 % del área total.

Absorción ultravioleta - Determinar la absorbancia de la muestra en una celda de 1 cm, entre 400 y 262 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando agua como blanco. La absorbancia no es mayor de 1,00 a 262 nm; 0,360 a 270 nm; 0,080 a 300 nm y 0,010 en el intervalo de 340 a 400 nm. La curva de absorbancia es suave y no presenta absorbancias extrañas dentro del intervalo observado.

2,5-Dimetoxibenzaldehído - $C_9H_{10}O_3$ - (PM: 166,2) - Cristales casi blancos.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,3 mm recubierta con fase estacionaria constituida por aceite de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 270 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 270 °C. Se emplea nitrógeno como gas transportador. El área del pico principal no es menor de 97 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 50 y 52 °C.

3,4-Dimetoxibenzaldehído - (*Veratraldehído*) - $C_9H_{10}O_3$ - (PM: 166,2) - Cristales aciculares, fácilmente solubles en alcohol y éter, ligeramente solubles en agua.

Intervalo de fusión <260> - Entre 42 y 43 °C.

1,2-Dimetoxietano - $C_4H_{10}O_2$ - (PM: 90,1) - Líquido transparente, incoloro, de olor etéreo. Miscible con agua y alcohol. Soluble en hidrocarburos. *Precaución* - *Puede formar peróxidos durante el almacenamiento.*

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 83 y 86 °C.

Índice de refracción <230> - Entre 1,379 y 1,381, a 20 °C.

Acidez - A 20 ml agregar azul de bromofenol (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,020 N. No se requieren más de 2,0 ml (aproximadamente 0,015 % como CH_3COOH).

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 0,2 %.

(3,4-Dimetoxifenil)-acetonitrilo - $C_{10}H_{11}NO_2$ - (*Homoveratronitrilo*) - (PM: 177,2) - Fibras casi blancas.

Intervalo de fusión <260> - Entre 65 y 67 °C.

m-Dinitrobenceno - $C_6H_4(NO_2)_2$ - (PM: 168,1) - Cristales o polvo cristalino color amarillo pálido. Casi insoluble en agua fría; poco soluble en agua caliente; soluble en cloroformo; moderadamente soluble en alcohol. Es volátil en vapor.

Intervalo de fusión <260> - Entre 89 y 92 °C.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,5 %.

2,4-Dinitroclorobenceno - $C_6H_3(NO_2)_2Cl$ - (PM: 202,6) - Cristales amarillos a amarillo parduscos. Insoluble en agua; soluble en alcohol caliente y éter.

Intervalo de fusión <260> - Entre 51 y 53 °C.

Residuo de ignición - Someter a ignición 500 mg con 5 gotas de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,2 %).

2,4-Dinitrofenilhidracina - $C_6H_3(NO_2)_2NHNH_2$ - (PM: 198,1) - Cristales rojo anaranjado, que bajo el microscopio parecen ser individualmente agujas de color amarillo limón. Poco soluble en agua y alcohol; moderadamente soluble en ácidos inorgánicos diluidos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 197 y 200 °C.

Solubilidad en ácido sulfúrico - Disolver 500 mg en una mezcla de 25 ml de ácido sulfúrico y 25 ml de agua: la solución es transparente o apenas turbia.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 500 mg.

2,4-Dinitrofluorobenceno - $C_6H_3FN_2O_4$ - (PM: 186,1) - (*1-Fluor-2,4-dinitrobenceno*) - Sólido amarillo claro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada (aproximadamente 0,2 μ l) en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de conductividad térmica y una columna de acero inoxidable de 1,8 m \times 4 mm con una fase estacionaria al 10 % constituida por aceite de dime-tilpolisiloxano, sobre un soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el inyector y detector a 290 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 140 °C y se programa un ascenso de 3 °C por minuto hasta alcanzar 190 °C. Se

emplea helio como gas transportador. El área del pico de 2,4-dinitrofluorobenceno no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 28 y 31 °C.

Dioxano - (*Dietilen dióxido; 1,4-Dioxano*) - $C_4H_8O_2$ - (PM: 88,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Dióxido de manganeso - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Dipicrilamina - Ver Hexanitrodifenilamina.

α,α' -Dipiridilo - Ver 2,2N-Bipiridina.

Disulfuro de carbono - CS_2 - (PM: 76,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Disulfuro de carbono cromatográfico - Emplear uno de grado apropiado.

Disulfuro de dioctadecilo - $C_{36}H_{74}S_2$ - (PM: 571,1) - Polvo blanco, prácticamente insoluble en agua.

Intervalo de fusión - Entre 53 y 58 °C.

5,5'-Ditiobis (ácido 2-nitrobenzoico) - (PM: 396,4) - $C_{14}H_8N_2O_8S_2$ - (*3-Carboxi-4-nitrofenil disulfuro; Reactivo de Ellman*) - Polvo amarillo; funde aproximadamente a 242 °C. Moderadamente soluble en alcohol.

3-(3,5-di-ter-butil-4-hidroxifenil)propionato de octadecilo - $C_{35}H_{62}O_3$ - (PM: 530,9) - Polvo cristalino blanco o ligeramente amarillento. Prácticamente insoluble en agua; muy soluble en acetona y hexano; poco soluble en metanol.

Intervalo de fusión - Entre 49 y 55 °C.

Ditiol - (*Tolueno-3,4-ditiol. 4-Metilbenceno-1,2-ditiol*) - $C_7H_8S_2$ - (PM: 156,3) - Cristales blancos, higroscópicos. Soluble en metanol y soluciones de hidróxidos alcalinos. Almacenar en envases de cierre hermético.

Punto de fusión <260> - Aprox. a 30 °C.

Ditionito de sodio - Ver Hidrosulfito de sodio.

Ditiotreitól - $HSCH_2CH(OH)CH(OH)CH_2SH$ - (*Reactivo de Cleland; treo-1,4-Dimercapto-2,3-butanodiol; DTT*) - (PM: 154,3) - Agujas algo higroscópicas cuando se obtienen a partir de éter, fácilmente solubles en agua, acetona, etanol, acetato de etilo y éter.

Intervalo de fusión <260> - Entre 23 y 25 °C.

Ditizona - $C_6H_5N:NCSNHNHC_6H_5$ - (PM: 256,3) - (*Difeniltiocarbazona; Ácido feni-*

lazotiofórmico 2-fenilhidrazida) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Docusato sódico - (*Diocilsulfosuccinato de sodio*) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

1-Dodecanol - $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{OH}$ - (PM: 186,3) - (*Alcohol dodecílico*) - Líquido transparente, incoloro. Cristaliza como escamas en solución de alcohol diluido.

Intervalo de fusión <260> - Entre 23 y 25 °C.

Dodecil sulfato de sodio - $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{SO}_4\text{Na}$ - (PM: 288,4) - Polvo cristalino amarillo claro.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 800 mg y disolver en 100 ml de agua. Verter la solución a través de una columna de intercambio catiónico, recolectando el eluato en un recipiente

apropiado. Lavar la columna con 400 ml de agua, recolectando el lavado en el mismo recipiente que el eluato. Titular la solución con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) empleando fenolftaleína (SR) como indicador. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 28,84 mg de $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{SO}_4\text{Na}$. Contiene no menos de 99,0 %.

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 200 mg no presentan más de 0,02 mg de Cl (0,01 %).

Metales pesados <590> - *Método II*. No más de 2 ppm.

Fosfato (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 10 g en un crisol y enfriar. El residuo, disuelto en 25 ml de ácido sulfúrico 0,5 N, no debe contener más de 0,01 mg de PO_4 (1 ppm).

Dulcitol - Ver Galactitol.

E

Edetato disódico - (*Etilendiaminotetraacetato disódico*) - $C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \cdot 2H_2O$ - (PM: 372,2) - Emplear un grado apropiado de la sal disódica dihidratada del ácido etilendinitrilo tetraacético.

Edetato cálcico disódico - (*Etilendiaminotetraacetato cálcico disódico*) - $C_{10}H_{12}N_2O_8CaNa_2$ - (PM: 374,3) - Emplear un grado apropiado de la sal disódica cálcica del ácido etilendinitrilo tetraacético. Puede ser anhidro o dihidrato.

n-Eicosano - $C_{20}H_{42}$ - (PM: 282,6) - Sólido blanco, cristalino.

Intervalo de fusión <260> - Entre 37 y 39 °C.

Enzima fosfática - Una preparación de enzimas de origen microbiano, con alta actividad de fosfatasa y de amilasa, siendo la primera propiedad la que la hace apropiada para emplearse en la liberación de tiamina de sus ésteres ortofosfato y pirofosfato. Polvo color crema brillante o algo gris. Fácilmente soluble en agua. Hidroliza 300 veces su peso de almidón en 30 minutos.

Actividad de amilasa - Transferir a un tubo de ensayo 5 ml de una solución (1 en 50) de almidón soluble en solución reguladora de acetato de sodio 0,2 M, pH 5 (que contenga 1,6 g de acetato de sodio anhidro en cada litro y ácido acético glacial suficiente para ajustar a pH 5) y agregar 4 ml de agua. Mezclar y colocar en un baño de agua a 40 °C. Agregar 1 ml de una solución que contiene 0,3 mg de la enzima fosfática, mezclar y observar el tiempo exacto. Luego de 30 minutos retirar 1,0 ml de la mezcla y agregarla a 5,0 ml de iodo 0,0005 N en un tubo de ensayo de 150 mm × 20 mm: se produce un color rojo transparente.

Eosina (eosina Y) - (*Tetrabromofluoresceína sódica*) - $C_{20}H_6Br_4Na_2O_5$ - (PM: 691,9) - Piezas o polvo de un color entre rojo y pardusco. 1 g se disuelve en aproximadamente 2 ml de agua y en 50 ml de alcohol.

Apariencia y color - Una solución (1 en 500) presenta una coloración entre amarillenta y rojo púrpura con fluorescencia verdosa. Una solución (1 en 12.000) en alcohol presenta una coloración entre rosada y rojo púrpura con fluorescencia amarillo verdosa. El agregado de ácidos minerales a una solución (1 en 100) produce un precipitado entre anaranjado y anaranjado rojizo de tetrabromofluoresceína. Al agregar 2 ml de solución saturada de hidróxido de sodio a 10 ml de una solución del colorante (1 en 100) se forma un precipitado rojo.

Epiandrosterona - $C_{19}H_{30}O_2$ - (PM: 290,4) - Polvo cristalino de color blanco.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Tolueno y etanol (9:1).

Procedimiento - Examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm. Se observa una sola mancha con trazas de impurezas.

Intervalo de fusión <260> - Entre 172 y 177 °C.

Equilenina - $C_{18}H_{18}O_2$ - (PM: 266,3) - Cristales o polvo cristalino incoloros o blancos. Insoluble en agua; soluble en cloroformo y dioxano; moderadamente soluble en alcohol.

Intervalo de fusión <260> - *Método II*. Entre 256 y 260 °C.

Rotación específica <170> - Entre + 85° y + 88°, determinada en una solución en dioxano que contiene 75 mg de equilenina cada 10 ml.

Máximos de absorción - Una solución de alcohol presenta máximos de absorción a 231, 282, 325 y 340 nm.

Eriocromo cianina R - $C_{23}H_{15}Na_3O_9S$ - (PM: 536,4) - Polvo oscuro, rojo pardusco. Fácilmente soluble en agua; insoluble en alcohol.

Solubilidad - 200 mg en 100 ml de agua producen una solución que permanece transparente y está exenta de materia no disuelta durante 30 minutos.

Pérdida por secado <680> - Secar al vacío sobre gel de sílice hasta peso constante: no pierde más de 2 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - 0,5 g tratados con 1 ml de ácido sulfúrico y 2 ml de ácido nítrico, producen entre 42,0 y 44,0 % de peso seco (teórico 42,9 % de Na_2SO_4).

Sensibilidad - Agregar 2 ml de una solución (1 en 1000) a 1 ml de solución de sulfato de aluminio (1 en 10.000), calentar a 37 ± 3 °C durante 5 minutos, enfriar y agregar 1 ml de acetato de sodio (SR): se produce un color fuerte entre rojo y rojo violáceo en no más de 5 minutos.

Eritritol - (*Mesoeritritol; 1,2,3,4-Butanotetrol*) - $C_4H_{10}O_4$ - (PM: 122,1) - Prismas tetragonales. Estable al aire. Muy soluble en agua proporcionando una solución transparente, incolora. Almacenar en un sitio frío o a temperatura ambiente en un área seca.

Intervalo de fusión <260> - Entre 118 y 120 °C.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 0,5 %.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,1 %.

Erucamida - ((z)-Docos-13-enamida) - (PM: 337,6) - $C_{22}H_{43}NO$ - Polvo o granulado blanco a amarillento. Prácticamente insoluble en agua; muy soluble en cloruro de metileno; soluble en etanol.

Punto de fusión - Aproximadamente a 70 °C.

Escina - Mezcla de saponósidos relacionados, obtenida a partir de las semillas de *Aesculus hippocastanum* L. Polvo amorfo, fino, prácticamente blanco o ligeramente amarillento o rojizo.

Cromatografía -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*), recubierta con gel de sílice para cromatografía.

Fase móvil - Butanol, agua y ácido acético glacial (50:40:10).

Revelador - Anisaldehído (SR1).

Procedimiento - Aplicar sobre la placa 20 µl de una solución de 1 mg de escina por ml de alcohol al 70 % v/v. Desarrollar el cromatograma hasta que el frente de solvente haya recorrido aproximadamente tres cuartas partes de la longitud de la placa. Retirar la placa de la cámara, secar entre 100 y 105 °C, pulverizar sobre la placa con *Revelador* y calentar entre 100 y 105 °C hasta la aparición de bandas rojas. El cromatograma una mancha principal con valor de R_f de 0,4.

Escualano - (2,6,10,15,19,23-Hexametilтетраcosano) - $C_{30}H_{62}$ - (PM: 422,8) - Líquido oleoso, incoloro. Fácilmente soluble en éter y aceites; poco soluble en acetona, alcohol, ácido acético glacial y metanol.

Densidad relativa <160> - Entre 0,811 y 0,813, a 20 °C.

Índice de refracción <230> - Entre 1,451 y 1,453, a 20 °C.

Estaño - Sn - (PA: 118,71) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Estearato de metilo - $C_{19}H_{38}O_2$ - (PM: 298,5) - Sólido cristalino casi blanco.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar recubierta con una capa 1 µm de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 300 °C. La temperatura de la columna se mantiene a 200 °C y se programa un aumento de 10 °C por minuto hasta 300 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico $C_{19}H_{38}O_2$ no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 40 y 42 °C.

Éter etílico de N-acetil-L-tirosina - $C_{13}H_{17}NO_4$ - (PM: 251,3) - Determinar si el material es apropiado según se indica en *Valoración de Quimotripsina*.

Estrona - (PM: 270,4) - Emplear un reactivo analítico de grado apropiado.

Etanol - Ver Alcohol etílico.

Etanolamina - (2-Aminoetanol) - C_2H_7NO - (PM: 61,1) - Líquido higroscópico, viscoso incoloro, transparente, miscible con agua y metanol; muy soluble en éter. Conservar en envase hermético.

Punto de fusión - Aprox. 11 °C.

Índice de refracción - Aprox. 1,454; determinada a 20 °C:

Densidad relativa - Aprox. 1,04; determinada a 20 °C.

Éter - Ver Éter etílico.

Éter absoluto - Ver Éter etílico anhidro.

Éter butílico - (n-Dibutil éter) - $C_8H_{18}O$ - (PM: 130,2) - Emplear uno de grado apropiado.

Éter de petróleo - (Bencina de petróleo; Hexano solvente) - Líquido transparente, volátil, de olor etéreo débil, similar al del petróleo. Prácticamente insoluble en agua; soluble en alcohol absoluto. Miscible con éter, cloroformo y la mayoría de los aceites fijos y volátiles.

Precaución - Es muy inflamable. Mantener alejado de las llamas y almacenar en envases de cierre perfecto en un sitio fresco.

Apariencia y color - Verter 100 ml, previamente mezclados en su envase original, en un tubo de comparación de color de 100 ml y comparar con un estándar, en un tubo similar, que contenga 2 ml de platino-cobalto (SR) en volumen similar: los dos líquidos son igualmente transparentes y exentos de material o sedimento en suspensión y cuando se observan a través de las columnas por luz transmitida, la muestra no posee color más oscuro que el estándar.

Olor - Su olor no es desagradable y no sugiere mercaptanos o tiofeno.

Intervalo de destilación (Ensayo para reactivos) - Destilar 100 ml: no se obtiene destilado por debajo de 30 °C y no menos de 100 % destila entre 30 y 60 °C.

Residuo de evaporación - Evaporar 150 ml (100 g) en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 30 minutos: el residuo no pesa más de 1 mg (0,001 %).

Acidez - Agitar 10 ml con 5 ml de agua durante 2 minutos y dejar separar las fases: la fase acuosa no colorea de azul el papel de tornasol rojo dentro de un intervalo de 15 segundos.

Aceites pesados y grasas - Verter gradualmente 10 ml sobre el centro de un papel de filtro limpio: no hay olor desagradable y ninguna mancha grasosa visible en el papel una vez transcurridos 30 minutos.

Éter de petróleo para cromatografía - Cumple con las especificaciones para Éter de petróleo y con los requisitos del siguiente ensayo adicional.

Pureza espectral - Determinar en una celda de 1 cm a 300 nm, con un espectrofotómetro apropiado, frente al aire como blanco: su absorbancia no es mayor de 0,08.

Éter difenílico - Ver Difenil éter.

Éter etílico - (*Éter dietílico; Éter*) - $(C_2H_5)_2O$ - (PM: 74,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Éter etílico anhidro - (*Éter absoluto*) - $(C_2H_5)_2O$ - (PM: 74,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Éter isopropílico - Ver Diisopropil éter.

Éter monoetílico de etilenglicol - (*2-Etoxietanol*) - $C_4H_{10}O_2$ - (PM: 90,1) - Líquido transparente, incoloro de olor leve, característico. Miscible con agua, alcohol, éter y acetona.

Densidad relativa <160> - Aprox. 0,93.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 133 y 135 °C.

Éter, polietilenglicol fenil nonil - Ver (*p*-ter-Octilfenoxi) nonaetoxietanol.

4[(etilamino)metil]piridina - $C_8H_{12}N_2$ - (PM: 136,2) - Líquido amarillo pálido.

Densidad relativa <160> - Aprox. 0,98.

Índice de refracción <230> - Aprox. 1,156.

Punto de ebullición - Aprox. 98 °C.

Etilbenceno - C_8H_{10} - (PM: 106,2) - Líquido transparente e incoloro. Soluble en acetona y alcohol; prácticamente insoluble en agua. Emplear un reactivo analítico apropiado, no menos de 99,5 % peso en peso.

Índice de refracción - Aprox. 1,496 20 °C.

Punto de ebullición - Aprox. 135 °C.

4-Etilbenzaldehído - $C_2H_5C_6H_4CHO$ - (PM: 134,2) - Líquido incoloro a amarillo pálido.

Valoración - Disolver aproximadamente 600 mg, exactamente pesados, en una mezcla de 100 ml de alcohol y 25 ml de clorhidrato de hidroxilamina 1 M en un vaso de precipitados. Cubrir el vaso de precipitados con un vidrio de reloj. Calentar suavemente hasta que empiece a formarse un condensado en el vidrio de reloj. Dejar enfriar durante aproximadamente 30 minutos. Titular con hidróxido de sodio 0,5 N (SV), determinan-

do el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,5 N equivale a 67,09 mg de $C_2H_5C_6H_4CHO$. Contiene no menos de 98 %.

Etilendiaminotetraacetato disódico - Ver Ede-tato disódico.

Etilendiaminotetraacetato tetrasódico - (*Sal tetrasódica del ácido etilendinitrilo tetraacético*) - $C_{10}H_{12}N_2Na_4O_8$ - (PM: 380,2) - Polvo fino, blanco, cristalino. Soluble en agua.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 4 horas: no pierde más de 8 % de su peso.

Etilenglicol - $HOCH_2CH_2OH$ - (PM: 62,1) - Líquido transparente, incoloro, poco viscoso, higroscópico, prácticamente inodoro. Poco soluble en éter. Miscible con agua y alcohol.

Densidad relativa - Aprox. 1,11.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 194 y 200 °C.

Residuo de ignición - Evaporar 100 ml (110 g) en un cristizador, previamente pesado, sobre una llama hasta que los vapores continúen quemándose luego de retirar la llama. Dejar que los vapores se quemen hasta que la muestra se consuma. Someter a ignición a 800 ± 25 °C durante 1 hora, enfriar y pesar: el residuo no pesa más de 5,5 mg (0,005 %).

Acidez - Agregar 0,2 ml de rojo de fenol (SR) a 50 ml de agua y titular con hidróxido de sodio 0,1 N hasta punto final rojo. Agregar 50 ml (55 g) de etilenglicol y titular con hidróxido de sodio 0,1 N: no se requiere más de 1 ml para restaurar el color rojo (0,01 % como CH_3COOH).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 4,5 ml (5 g) no presenta más de 0,025 mg de Cl (5 ppm).

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 0,20 %.

Eucaliptol - Ver Cineol.

Eugenol - (*4-Alil-2-metoxifenol*) - $C_{10}H_{12}O_2$ - (PM: 164,2) - Líquido oleoso, incoloro o amarillo pálido. Por exposición al aire y a la luz, se colorea y se hace más viscoso. Miscible con aceites, aceites esenciales, alcohol y éter. Prácticamente insoluble en agua. Proteger de la luz.

Densidad relativa <160> - Aprox. 1,07.

Punto de ebullición - Aprox. 250 °C.

Para uso en cromatografía de gases, debe cumplir con el siguiente ensayo.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de vidrio de 60 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de fase estacionaria constituida por goma de polietilenglicol 20.000. Mante-

ner el inyector y el detector a aproximadamente 270 °C. La temperatura de la columna se debe mantener a 60 °C durante 8 minutos, se programa un ascenso de 3 °C por minuto hasta 180 °C, y se mantiene a esta temperatura durante 5 minutos. Se emplea helio como gas transportador, el caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto. La respuesta del pico principal no debe ser menor de 98,0 % de la suma de las respuestas de todos los picos.

Extracto de levadura - Un derivado soluble en agua, similar a peptona de células de levadura (*Saccharomyces*) preparado bajo condiciones óptimas, clarificado y secado hasta obtener un polvo amarillo rojizo o pardo, de olor característico pero no pútrido. Soluble en agua, proporcionando una solución amarilla parda, teniendo una reacción algo ácida. No contiene carbohidratos agregados. 1 g representa no menos de 7,5 g de levadura.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 5 % de su peso.

Residuo de ignición <270> - Someter a ignición 500 mg con 1 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 75 mg (15 %).

Proteína coagulable - Calentar una solución filtrada (1 en 20) a ebullición: no se forma precipitado.

Cloruro (Ensayo para reactivos) - No presenta más de 5 % de Cl, calculado como cloruro de sodio.

Compuestos nitrogenados (Ensayo para reactivos) - Determinar por el método Kjeldahl, empleando una muestra previamente secada a 105 °C hasta peso constante: contiene entre 7,2 y 9,5 % de N.

Contenido microbiano - Cumple con los requisitos del ensayo para *Contenido microbiano* en Digerido pancreático de caseína.

Extracto de carne - Concentrado de caldo de carne obtenido mediante la extracción de carne fresca, cocida con agua y evaporando el caldo a baja temperatura, generalmente al vacío, hasta que se obtenga un residuo espeso, pastoso. Masa color marrón, algo ácida, pastosa con olor a carne agradable. Almacenarlo en envases inactivos de cierre perfecto.

Para los siguientes ensayos, preparar una *Solución muestra* disolviendo 25 g en agua hasta obtener 250 ml de una solución prácticamente transparente y casi libre de sedimento.

Contenido de nitrógeno en las sustancias solubles en alcohol - Transferir una porción del filtrado y los lavados remanentes del ensayo para *Sustancias insolubles en alcohol*, correspondiente a 1 g de sólidos solubles en alcohol, a un matraz de Kjeldahl de 500 ml. Agregar aproximadamente 10 g de sulfato

de potasio pulverizado y 20 ml de ácido sulfúrico. Calentar la mezcla a baja temperatura hasta que cese la espuma luego subir la temperatura y calentar a ebullición hasta que la mezcla adquiera un color amarillo pálido o se convierta en prácticamente incolora. Enfriar el matraz, agregar aproximadamente 250 ml de agua y, con cuidado, solución de hidróxido de sodio (3 en 10) hasta que el contenido sea alcalino luego agregar 5 ml adicionales. Conectar el matraz inmediatamente a través de una trampa a un condensador, cuyo tubo de salida se sumerge bajo la superficie de 50,0 ml de ácido sulfúrico 0,1 N (SV) contenido en un matraz colector. Destilar la mezcla hasta recoger aproximadamente 100 ml de destilado en el ácido. Agregar rojo de metilo (SR) y titular el exceso de ácido con hidróxido de sodio 0,1 N (SV). Cada mililitro de ácido sulfúrico 0,1 N equivale a 1,401 mg de N. Contiene no menos de 60 mg de nitrógeno.

Valoración de nitrógeno como amoníaco - A 100 ml de *Solución muestra*, contenida en un matraz de Kjeldahl de 500 ml, agregar 5 g de carbonato de bario y 100 ml de agua y a través de una trampa conectada a un condensador cuyo tubo de salida inferior se sumerge bajo la superficie de 50,0 ml de ácido sulfúrico 0,1 N (SV) contenido en un matraz colector. Destilar la mezcla hasta recolectar aproximadamente 100 ml de destilado, agregar rojo de metilo (SR) y titular el exceso de ácido con hidróxido de sodio 0,1 N (SV). Cada mililitro de ácido sulfúrico 0,1 N equivale a 1,703 mg de NH₃. La cantidad de amoníaco encontrado no excede 0,35 % de los sólidos totales en la porción de *Solución muestra* tomada.

Sólidos totales - Distribuir 10 ml de *Solución muestra* sobre arena o asbesto limpio y seco, previamente pesado en una cápsula de porcelana y secar a 105 °C durante 16 horas: el residuo no pesa menos de 750 mg (75 %).

Residuo de ignición - Someter a ignición el residuo obtenido en el ensayo para *Sólidos totales* calentando la placa moderadamente: el residuo no excede 30 % de los sólidos totales.

Cloruros calculados como cloruro de sodio - Disolver la ceniza obtenida en el ensayo para *Residuo de ignición* en aproximadamente 50 ml de agua y cuidadosamente transferir a un matraz aforado de 100 ml. Agregar a la solución unas pocas gotas de ácido nítrico y 10,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV). Agregar agua a volumen y mezclar. Filtrar en un matraz seco a través de un filtro seco, rechazando los primeros 10 ml del filtrado. A 50,0 ml del filtrado posterior agregar 1 ml de sulfato férrico amónico (SR) y titular con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 5,844 mg de NaCl. El peso

de cloruros calculado como cloruro de sodio obtenido, multiplicando por 2, no es mayor de 6 % de los sólidos totales.

Sustancias insolubles en alcohol - Transferir 25 ml de *Solución muestra* a un erlenmeyer de 100 ml, agregar 50 ml de alcohol y agitar. Recolectar el precipitado en un filtro, lavarlo tres veces con una mezcla de 2 volúmenes de alcohol y 1 volumen de agua y secar a 105 °C durante 2 horas: el peso del precipitado, representando los sólidos insolubles de alcohol, no es mayor de 10 % de los sólidos totales en la porción de *Solución muestra* tomada.

Nitrato - Calentar a ebullición 10 ml de *Solución muestra* durante 1 minuto con 1,5 g de carbón activado, agregar agua para reemplazar la pérdida por evaporación, filtrar y agregar 1 gota del filtrado a 3 gotas de una solución de difenilamina en ácido sulfúrico (1 en 100): no se produce color azul.

F

Factor X_a (Factor X Activado) para el ensayo de antifactor X_a - El Factor X_a es la enzima proteolítica obtenida a partir del plasma bovino, que escinde a la protrombina para formar trombina. Es una glicoproteína que tiene un peso molecular de 40.000. Por electroforesis en gel (ver 300. *Electroforesis*) la proteína principal de interés constituye no menos de 90 % de la cantidad total de zonas proteicas. Para emplear como un reactivo en el ensayo de Antifactor X_a, la enzima es activada por el veneno de serpiente de Russel, se retira el agente activante mediante cromatografía, la preparación se estabiliza con albúmina bovina y se liofiliza.

Actividad específica - No menos de 40 UI de Factor X_a por mg de proteína, cuando se ensaya del siguiente modo: mezclar 0,1 ml de una solución saturada de cefalina derivada de tromboplastina cerebral de conejos, equivalente a la tromboplastina de aproximadamente 20 mg de polvo de cerebroacetona de conejo por ml, en plasma bovino y 0,1 ml de cloruro de calcio 0,025 M; agregar de inmediato 0,1 ml de la solución de Factor X_a, correspondiente a una concentración de 0,01 mg de proteína específica por ml, e incubar a 37 °C: produce un coágulo en 15 segundos.

Ausencia de trombina - Una solución que contenga 3,0 UI de Factor X_a por ml en *Solución reguladora de pH 8,4* (ver *Heparina Sódica*) se incuba a 20 °C en ausencia de iones calcio: no se produce exceso de coagulación del fibrinógeno puro dentro de un periodo de 24 horas.

Fenacetina - Emplear uno de grado apropiado.

1,10-Fenantrolina - (*Ortofenantrolina*) - (PM: 198,2) - C₁₂H₈N₂ · H₂O - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fenantrolina, clorhidrato de - C₁₂H₉ClN₂ · H₂O - (PM: 234,7) - Polvo cristalino blanco o casi blanco. Fácilmente soluble en agua; soluble en alcohol.

Punto de fusión- Aprox. 215 °C, con descomposición.

Fenazona - (*Antipirina; 2,3-dimetil-1-fenil-3-pirazolin-5-ona*) - C₁₁H₁₂N₂O - (PM: 188,2) - Polvo cristalino incoloro.

Punto de fusión- Aprox. 112 °C.

dl-Fenilalanina - C₉H₁₁NO₂ - (PM: 165,2) - Emplear uno de grado apropiado.

3-Fenilfenol - (*m-Fenilfenol*) - C₆H₅C₆H₄OH - (PM: 170,2) - Polvo cristalino blanco o casi blanco.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m × 0,25 mm recubierta por una fase estacionaria constituida por aceite de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y 310 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un ascenso de 15 °C por minuto hasta 250 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de 3-fenilfenol no es menor de 98 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 76 y 79 °C.

Fenil isocianato - C₆H₅NCO - (PM: 119,1) - Líquido transparente, incoloro o amarillo pálido de volatilidad media.

Precaución - El Fenil isocianato es un violento lacrimatorio y el vapor es altamente tóxico. Manipular con cuidado.

Valoración - Transferir 250 mg, exactamente pesados, a un erlenmeyer de 250 ml con tapón de vidrio. Tomar precauciones para evitar pérdidas por volatilización y evitar la respiración del vapor. Agregar 20 ml de solución de butilamina (25 g de butilamina, previamente secados sobre pellets de hidróxido de potasio, diluidos a 1 litro con dioxano), insertar el tapón en el erlenmeyer y dejar reposar durante 15 minutos. Agregar unas pocas gotas de rojo de metilo (SR) y 25 ml de agua y titular el exceso de amina con ácido sulfúrico 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco empleando 20 ml de la solución de butilamina (ver *Titulaciones residuales* en 780. *Volumetría*). Restar el volumen de ácido sulfúrico 0,1 N consumido en la titulación de la muestra de aquél consumido en la titulación del blanco. Cada mililitro de ácido sulfúrico 0,1 N, representando por esta diferencia, equivale a 11,91 mg de C₆H₅NCO. Contiene no menos de 97,0 % de C₆H₅NCO.

Fenilhidracina - C₆H₅NHNH₂ - (PM: 108,1) - Líquido incoloro o ligeramente amarillento, altamente refractivo. [NOTA: proteger de la luz y destilar bajo presión reducida antes de emplear.]

Temperatura de solidificación <180> - No menor de 16 °C.

Materia insoluble - Agitar 1 ml con 20 ml de ácido acético diluido: la solución resultante es transparente o casi transparente.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 ml con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo pesa no más de 1 mg (0,1 %).

Fenol - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fenolsulfotaleína - Emplear Rojo de fenol (ver *Indicadores en Indicadores, papeles y papeles indicadores*).

2-Fenoxietanol - $C_6H_5OCH_2CH_2OH$ - (PM: 138,2) - Líquido incoloro, algo viscoso. Soluble en agua. Miscible con alcohol, acetona y glicerina. Densidad: aproximadamente 1,107.

Valoración - A 2 g, exactamente pesados, agregar 10 ml de una solución recientemente preparada mediante disolución de 25 g de anhídrido acético en 100 g de piridina anhidra. Agitar por rotación para mezclar los líquidos, calentar en un baño de vapor durante 45 minutos, agregar 10 ml de agua, calentar durante 2 minutos adicionales y enfriar. Agregar 10 ml de alcohol *n*-butílico, agitar vigorosamente, agregar fenoltaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 1 N equivale a 138,2 mg de $C_8H_{10}O_2$. Contiene no menos de 99 %.

Fenol - Agregar 0,2 ml a 20 ml de agua, mezclar y, a 5 ml de la mezcla, agregar 0,2 ml de reactivo de Millon. Calentar la solución a 60 °C durante 90 segundos y dejar reposar: ningún color rosado o rojo se produce dentro de 1 minuto.

Ferricianuro de potasio - $K_3Fe(CN)_6$ - (PM: 329,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ferrocianuro de potasio - $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ - (PM: 422,4) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ferrocianuro de sodio - $Na_4Fe(CN)_6 \cdot 10H_2O$ - (PM: 484,1) - Cristales o gránulos amarillos. Fácilmente soluble en agua.

Valoración - Disolver 2 g, exactamente pesados, en 400 ml de agua, agregar 10 ml de ácido sulfúrico y titular con permanganato de potasio 0,1 N (SV). Cada mililitro de permanganato de potasio 0,1 N equivale a 48,41 mg de $Na_4Fe(CN)_6 \cdot 10H_2O$. Contiene no menos de 98 %.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 10 g (0,01 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - Disolver 1 g en 75 ml de agua, agregar una solución preparada disolviendo 1,2 g de sulfato cúprico en 25 ml de agua, mezclar y dejar reposar durante 15 minutos. A 20 ml del líquido decantado transparente agregar 2 ml de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata (SR): si aparece turbidez no excede la de un control que contenga 0,02 mg de Cl, 2 ml de ácido nítrico, 1 ml de nitrato de plata (SR) y sulfato cúprico suficiente para armonizar el color de la solución muestra.

Sulfato - Disolver 5 g en 100 ml de agua sin calentar, filtrar y agregar al filtrado 0,25 ml de ácido acético glacial y 5 ml de cloruro de bario (SR): no se produce turbidez en 10 minutos (aproximadamente 0,01 % como SO_4).

Ferroína - Transferir 0,7 g de sulfato férrico y 1,76 g de clorhidrato de fenantrolina a un matraz aforado de 100 ml, disolver en 70 ml de agua y completar a volumen con el mismo solvente.

Ensayo de sensibilidad - A 50 ml de ácido sulfúrico diluido, agregar 0,15 ml de una solución de 2,5 mg de tetróxido de osmio por ml de ácido sulfúrico 0,05 M y agregar 0,1 ml de ferroína. Después del agregado de 0,1 ml de nitrato cérico amónico 0,1 M, el color vira del rojo al verde pálido.

Floroglucinol - $C_6H_3(OH)_3 \cdot 2H_2O$ - (PM: 162,1) - Cristales blancos o blanco amarillentos o polvo cristalino. Algo soluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Solubilidad en alcohol - Disolver 1 g en 20 ml de alcohol: resulta una solución transparente y completa.

Intervalo de fusión <260> - Método I. Entre 215 y 219 °C.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1 mg (0,1 %).

Diresorcinol - Calentar a ebullición una solución de 100 mg en 10 ml de anhídrido acético, enfriar la solución y superponerla sobre 10 ml de ácido sulfúrico: ningún color violeta aparece en la zona de contacto de los líquidos.

Fluoreno - $C_{13}H_{10}$ - (PM: 166,2) - Cristales o polvo blanco o casi blanco. Soluble en disulfuro de carbono, éter y alcohol caliente; fácilmente soluble en ácido acético glacial.

Ensayo de solubilidad - 1 g se disuelve en 10 ml de acetona para proporcionar una solución transparente y completa.

Intervalo de fusión <260> - Entre 113 y 117 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 2 °C.

Fluorescamina - $C_{17}H_{10}O_4$ - (PM: 278,3) - Polvo blanco o casi blanco. Poco soluble en agua y cloroformo; fácilmente soluble en cloruro de metileno; soluble en alcohol.

Valoración - Disolver aproximadamente 600 mg en 75 ml de dimetilformamida y titular con metóxido de litio 0,1 N hasta punto final azul, empleando azul de timol al 1 % en dimetilformamida como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de metóxido de litio 0,1 N equivale a 27,83 mg de $C_{17}H_{10}O_4$. Contiene no menos de 99 %.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 4 horas: no pierde más de 0,5 % de su peso.

Fluoresceína sódica - $C_{20}H_{10}Na_2O_5$ - (PM: 376,3) - Polvo higroscópico rojo-anaranjado. Fácilmente soluble en agua; poco soluble en alcohol. Su solución en agua es de color rojo amarillento y presenta una fuerte fluorescencia verde amarillenta que desaparece cuando se acidifica la solución y reaparece cuando se neutraliza o se alcaliniza.

Pérdida por secado <680> - Secar a 120 °C hasta peso constante: no pierde más de 7,0 % de su peso.

4'-Fluoroacetofenona - $FC_6H_4COCH_3$ - (PM: 138,1) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m × 25 mm recubierta con una capa de 1 μm de goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 200 y 250 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 100 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 250 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de $FC_6H_4COCH_3$ no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Aproximadamente 1,510, a 20 °C.

Fluoruro de amonio - NH_4F - (PM: 37,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fluoruro de sodio - NaF - (PM: 42,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Formaldehído - CH_2O - (PM: 30,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Formamida - $HCONH_2$ - (PM: 45,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Preparación para la valoración de digitoxina - Para garantizar la ausencia de amoníaco, proceder del siguiente modo. Agitar una cantidad apropiada de formamida con aproximadamente 10 % de su peso de carbonato de potasio anhidro durante 15 minutos y filtrar. Destilar el filtrado en un aparato totalmente de vidrio bajo vacío a una presión de aproximadamente 25 mm Hg o menor. Descartar la primera porción del destilado que contiene agua y recolectar la fracción que destila aproximadamente a 115 °C a una presión de 25 mm Hg o a 101 °C a una presión de 12 mm Hg. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto.

Formiato de amonio - (*Sal de amonio del ácido fórmico*) - CH_5NO_2 - (PM: 63,1) - Emplear uno de grado apropiado.

Fosfatasa alcalina - Emplear uno de grado apropiado.

Fosfato amónico de sodio - $NaNH_4HPO_4 \cdot 4H_2O$ - (PM: 209,1) - Cristales incoloros o gránulos blancos. Fácilmente soluble en agua; insoluble en alcohol. Es eflorescente al aire y pierde amoníaco.

Materia insoluble y precipitado de hidróxido de amonio - Disolver 10 g en 100 ml de agua, agregar 10 ml de amoníaco (SR) y calentar en un baño de vapor durante 1 hora. Si se forma precipitado, filtrar, lavar bien con agua y someter a ignición: el precipitado sometido a ignición no pesa más de 1 mg (0,01 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,02 mg de Cl (0,002 %).

Metales pesados - Disolver 3 g en 25 ml de agua, agregar 15 ml de ácido sulfúrico 1 N luego agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): ningún color pardo que se desarrolle en 1 minuto debe ser más oscuro que el de un control que contenga 3 ml de *Solución estándar de plomo* (ver 600. *Límite de plomo*) y 0,5 ml de ácido sulfúrico 1 N (0,001 %).

Nitrato - Disolver 1 g en 10 ml de agua, agregar 0,1 ml de índigo carmín (SR) luego agregar, con agitación, 10 ml de ácido sulfúrico: el color azul persiste durante 10 minutos (aproximadamente 0,005 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método II*. Disolver 10 g en 100 ml de agua, agregar 5 ml de ácido clorhídrico y filtrar si fuera necesario: el filtrado no produce más de 5 mg de residuo (0,02 %).

Fosfato de amonio - Ver Fosfato dibásico de amonio.

Fosfato de dodeciltrietilamonio 0,5 M - $[C_{12}H_{25}N \cdot (C_2H_5)_3]_3PO_4$ - (PM: 906,0) - Emplear uno de grado apropiado.

5-Fosfato de piridoxal - (PM: 265,2) - $4-CHOC_5HN-2-CH_3,3-OH, 5-CH_2PO_4H_2 \cdot H_2O$ - Polvo amarillo brillante.

Valoración - Transferir aproximadamente 500 mg, exactamente pesados, a un erlenmeyer apropiado. Agregar 20,0 ml de hidróxido de sodio 0,5 N (SV) y 130 ml de agua y calentar a reflujo durante 1 hora. Enfriar, transferir la solución a un vaso de precipitados de 250 ml, lavar el erlenmeyer con aproximadamente 30 ml de agua y agregar el lavado al vaso de precipitados. Titular la solución con ácido clorhídrico 0,5 N (SV), determinando el primer punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N consumido equivale a 8,839 mg de $C_8H_{10}NO_6P \cdot H_2O$. Contiene no menos de 95 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 140 y 143 °C, con descomposición.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa.* Entre 8,5 y 9,5 %.

Fosfato de tetrabutylamonio - $(C_4H_9)_4NH_2PO_4$ - (PM: 339,5) - Polvo blanco a casi blanco. Soluble en agua.

Valoración - Disolver aproximadamente 1,5 g, exactamente pesados, en 100 ml de agua. Titular sin demora con hidróxido de sodio 0,5 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,5 N equivale a 169,7 mg de $(C_4H_9)_4NH_2PO_4$. Contiene no menos de 97,0 %.

Fosfato de tributilo - (*Tri-n-butyl fosfato*) - $(C_4H_9)_3PO_4$ - (PM: 266,3) - Líquido transparente, casi incoloro. Poco soluble en agua. Miscible con solventes orgánicos comunes. Densidad relativa: aproximadamente 0,976.

Índice de refracción - Entre 1,4205 y 1,4225.

Fosfato dibásico de amonio - (*Fosfato de amonio*) - $(NH_4)_2HPO_4$ - (PM: 132,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fosfato dibásico de potasio - (*Fosfato ácido dipotásico; Fosfato dipotásico*) - K_2HPO_4 - (PM: 174,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fosfato dibásico de sodio - (*Fosfato disódico; Fosfato ácido disódico; Fosfato sódico, dibásico, heptahidrato*) - $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ - (PM: 268,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fosfato dibásico de sodio anhidro - (*Fosfato de hidrógeno disódico anhidro*) (para soluciones reguladoras) - Na_2HPO_4 - (PM: 142,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fosfato disódico - Ver Fosfato dibásico de sodio.

Fosfato monobásico de amonio - (*Fosfato diácido de amonio*) - $NH_4H_2PO_4$ - (PM: 115,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fosfato monobásico de potasio - (*Bifosfato de potasio; Fosfato diácido de potasio*) - KH_2PO_4 - (PM: 136,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fosfato monobásico de sodio - $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ - (PM: 138,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fosfato tribásico de sodio - $Na_3PO_4 \cdot 12H_2O$ - (PM: 380,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fosfito de tris(2,4-di-ter-butilfenilo) - $C_{42}H_{63}O_3P$ - (PM: 647) - Polvo blanco. Intervalo de fusión: entre 182 y 186 °C.

Fosfito sódico - (*Fosfito disódico; fosfonato sódico*) - $Na_2HPO_3 \cdot 5H_2O$ - (PM: 216,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Fosfonoformiato de trietilo - (*(Dietoxifosforil)formiato de etilo*) - $C_7H_{15}O_3P$ - (PM: 210,2) - Líquido incoloro.

Punto de ebullición (Ensayo para reactivos) - Aprox. 135 °C.

Fósforo rojo - P - (PA: 30,97) - Polvo rojo oscuro. Insoluble en agua y en ácidos diluidos; soluble en alcohol absoluto.

Fósforo amarillo - Agitar 20 g con 75 ml de disulfuro de carbono en un recipiente con tapón de vidrio y dejar reposar en la oscuridad de la noche a la mañana. Filtrar y lavar el residuo con disulfuro de carbono hasta que el filtrado, recolectado en una probeta, sea de 100 ml. Evaporar el solvente a 10 ml sumergiendo la probeta en agua caliente. Sumergir una tira de papel de sulfato cúprico en el solvente restante: no se produce color más fuerte que en una tira similar sumergida en 10 ml de una solución en disulfuro de carbono que contiene 3 mg de fósforo amarillo (0,015 % como P).

Sustancias solubles - Digerir 2 g con 30 ml de ácido acético en un baño de vapor durante 15 minutos. Enfriar, diluir con agua a 40 ml y filtrar. Evaporar 20 ml del filtrado en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 2 horas: el residuo no pesa más de 6 mg (0,6 %).

Ftalato ácido de potasio - $C_8H_5KO_4$ (PM: 204,2) — Cristales blancos o casi blancos, soluble en agua y ligeramente soluble en alcohol. Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ftalato de bis(2-etilhexilo) - (PM: 390,6) - $C_6H_4-1,2-[COOCH_2(C_2H_5)CH(CH_2)]_2$ - Líquido incoloro o amarillo claro.

Índice de refracción - Entre 1,4855 y 1,4875, a 20 °C.

Ftalato de dibutilo - $C_{16}H_{22}O_4$ - (PM: 278,3) - Líquido transparente, incoloro.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 2 g y transferirlos a un erlenmeyer apropiado. Agregar 25,0 ml de hidróxido de sodio 1 N y 30 ml de alcohol isopropílico y mezclar. Digerir la mezcla a una temperatura cercana al punto de ebullición durante 30 minutos y luego enfriar en un baño de agua a temperatura ambiente. Agregar fenoltaleína (SR) y titular con ácido sulfúrico 1 N (SV) hasta la desaparición del color rosado. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias.

Cada mililitro de ácido sulfúrico 1 N consumido equivale a 139,2 mg de $C_{16}H_{22}O_4$. Contiene no menos de 98 %.

Índice de refracción <230> - Entre 1,491 y 1,493, a 20 °C.

Contenido ácido - Pesar exactamente alrededor de 10 g y disolver en 100 ml de una mezcla de alcohol y éter (1:1). Agregar fenolftaleína (SR) y titular de inmediato con hidróxido de potasio alcohólico 0,05 N (SV). Cada mililitro de hidróxido de potasio alcohólico 0,05 N equivale a 4,15 mg de ácido ftálico. Contiene no más de 0,02 %.

Ftalato de dipropilo - $C_{14}H_{18}O_4$ - (PM: 250,3) - Líquido viscoso, incoloro.

Valoración -

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 230 nm y una columna de 15 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice porosa de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal es de aproximadamente 2,0 ml por minuto.

Fase móvil - Acetonitrilo y agua (52:48).

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 20 μ l (ver 100. *Cromatografía*). El área del pico $C_{14}H_{18}O_4$ no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,495 y 1,499, a 20 °C.

Ftalazina - $C_8H_6N_2$ - (PM: 130,2) - Cristales de color amarillo o pardo.

Intervalo de fusión <260> - Entre 89 y 92 °C.

o-Ftaldehído - (*Benceno-1,2-dicarboxaldehído*) - $C_8H_6O_2$ - (PM: 134,1) - Polvo cristalino amarillo. [NOTA: conservar en envases herméticos inactivos].

Punto de fusión - Aprox. 55 °C

Ftalimida - $C_8H_5NO_2$ - (PM: 147,1) - Polvo blanco.

Valoración -

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ultravioleta ajustado a 230 nm y una columna de 15 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por partículas porosas de sílice de 5 a 10 μ m de diámetro. El caudal es de aproximadamente 2 ml por minuto.

Fase móvil - Isooctano y metil *ter*-butil éter (88:12).

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 20 μ l (ver 100. *Cromatografía*). El área del pico de $C_8H_5NO_2$ no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 233 y 235 °C, con descomposición.

Fucsina básica - Constituye una mezcla de clorhidratos de rosanilina y de pararosanilina. Cristales o fragmentos cristalinos con un lustre brillante de color bronce verdoso. Soluble en agua, alcohol y alcohol amílico.

A 10 ml de una solución (1 en 500) agregar 10 ml de amoníaco (SR) y 500 mg de polvo de cinc y agitar la mezcla: la solución se torna incolora. Colocar unas pocas gotas de la solución decolorada sobre un papel de filtro y cerca, en el mismo papel, colocar unas pocas gotas de ácido clorhídrico diluido: se desarrolla un color rojo en la zona de contacto.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 5,0 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 3 mg (0,3 %).

Furfural - C_4H_3OCHO - (PM: 96,1) - Líquido transparente e incoloro cuando está recientemente destilado, pero en seguida adquiere un color pardo rojizo. Soluble en agua. Miscible con alcohol. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto. Debe destilarse en el momento de ser empleado.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 159 y 162 °C.

G

Galactitol - (*Dulcitol*) - $C_6H_{14}O_6$ - (PM: 182,2)
- Cristales blancos o polvo cristalino. Estable al aire. 1 g se disuelve en 30 ml de agua para proporcionar una solución transparente, incolora. Almacenar en un sitio fresco o a temperatura ambiente en un sitio seco.

Intervalo de fusión <260> - Entre 188 y 189 °C.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*.
No más de 0,5 %.

Residuo de ignición <270> - No más de 0,1 %.

Gel de sílice - SiO_2 - Amorfo, en parte hidratado en forma de gránulos cristalinos de tamaño variable. Cuando se emplea como desecante, con frecuencia se recubre con una sustancia que cambia de color cuando se agota su capacidad de absorber agua. Tales productos coloreados se pueden regenerar (es decir, se puede recuperar su capacidad de absorber agua) calentando a 110 °C hasta que el gel recupere el color original.

[NOTA: los siguientes procedimientos y límites están diseñados sólo para probar el grado desecante de gel de sílice.]

Pérdida por ignición - Someter a ignición 2 g, exactamente pesados, a 950 ± 50 °C hasta peso constante: no pierde más de 6,0 % de su peso.

Absorción de agua - Transferir aproximadamente 10 g a un recipiente de pesaje, previamente pesado, y pesar. Luego colocar el recipiente, sin tapón, durante 24 horas en un envase cerrado cuya atmósfera se mantendrá a una humedad relativa de 80 % equilibrándola con ácido sulfúrico cuya densidad relativa sea 1,19. Pesar nuevamente: el aumento de peso no es menor de 31,0 % del peso de la muestra.

Gel de sílice con indicador de fluorescencia para cromatografía - Mezcla de gel de sílice con una sustancia fluorescente apropiada.

Gel de sílice con grupos amino químicamente unidos con indicador de fluorescencia para cromatografía - Emplear uno de grado apropiado.

Gel de sílice dimetilsilanizado con indicador de fluorescencia para cromatografía - Emplear uno de grado apropiado.

Gel de sílice libre de aglutinante - Gel de sílice para uso cromatográfico formulado sin aglutinante, ya que las formas activadas del gel de sílice se emplean como único agente aglutinante.

Gel de sílice octadecilsilanizado para cromatografía - Emplear uno de grado apropiado.

Gel de sílice octadecilsilanizado con indicador de fluorescencia para cromatografía - Emplear uno de grado apropiado.

Gel de sílice para cromatografía - Emplear uno de grado apropiado.

Gel de sílice poroso - Emplear uno de grado apropiado para cromatografía de líquidos de alta eficacia.

Gingenósido Rb_1 -
((20-S)-3 β -di-D-glucopiranosil-20-di-D-glucopiranosilprotopanaxadiol) - $C_{54}H_{92}O_{23} \cdot 3H_2O$ -
(PM: 1.163) - Sólido incoloro. Soluble en agua, alcohol y metanol.

Punto de fusión <260> - Aprox. 199 °C.

Rotación específica <170> - +11,3 °, determinada a 20 °C en una solución que contenga 10 mg por ml en metanol.

Agua <120> - No más de 6,8%.

Valoración - Proceder según se indica en *Valoración en Raíz de Ginseng Oriental*. Emplear una solución de 0,3 mg de gingenósido Rb_1 por ml de metanol como solución muestra. Debe contener no menos de 95,0 % calculado por el procedimiento de normalización.

Gingenósido Rg_1 -
((20-S)-6 β -D-glucopiranosil-D-glucopiranosilprotopanaxatriol) - $C_{42}H_{72}O_{14} \cdot 2H_2O$ - (PM: 837) -
Sólido incoloro. Soluble en agua, alcohol y metanol.

Intervalo de fusión <260> - Entre 188 y 191 °C.

Rotación específica <170> - +31,2 °, determinada a 20 °C en una solución que contenga 10 mg por ml en metanol.

Agua <120> - No más de 4,8%.

Valoración - Proceder según se indica en *Valoración en Raíz de Ginseng Oriental*. Emplear una solución de 0,3 mg de gingenósido Rg_1 por ml de metanol como solución muestra. Debe contener no menos de 95,0 % calculado por el procedimiento de normalización.

Gitoxina - $C_{41}H_{64}O_{14}$ - (PM: 780,9) - Polvo blanco, cristalino. Prácticamente insoluble en agua, cloroformo y éter; poco soluble en piridina y alcohol diluido. Funde aproximadamente a 250 °C, con descomposición.

Rotación específica <170> - Entre +3,8° y +4,8°, determinado en una solución de piridina que contenga 10 mg por ml, con el empleo de una luz de mercurio a 546,1 nm; entre +21° y +25°, determinado en una solución de cloroformo y

metanol (50:50) que contiene 5 mg por ml, empleando luz de sodio.

Aptitud - Disolver 10 mg de *Digitoxina SR-FA*, previamente secada, 10 mg de *Digoxina SR-FA* previamente secada y 10 mg de gitoxina, en porciones separadas de 5 ml de una mezcla de cloroformo y metanol (2:1) y diluir cada uno con mezcla solvente adicional a 10 ml. Luego proceder según se indica en el *Ensayo de identificación* para *Digoxina*. El cromatograma de gitoxina presenta una mancha fluorescente, ubicada entre las manchas de digoxina y digitoxina.

Glacial, ácido acético - Ver Ácido acético glacial.

Glicerina - (*Glicerol*) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Glicocolato de sodio - $C_{26}H_{42}NNaO_6$ - (PM: 487,6) - Polvo de color blanco o canela, inodoro o prácticamente inodoro. Es higroscópico. Fácilmente soluble en agua y alcohol.

Rotación específica <170> - Entre +28° y +31°, calculada sobre la sustancia seca (se torna anhidro al secar a 100 °C durante 2 horas), determinada a 20 °C en una solución que contenga 10 mg por ml.

Determinación de nitrógeno <200> - *Método I*. Entre 2,6 y 3,2 % de N, calculado sobre la sustancia seca.

Guayacol - (*o-Metoxifenol*) - $C_7H_8O_2$ - (PM: 124,1) - Líquido refractivo entre incoloro y amarillento, con un olor característico. Moderadamente soluble en agua; soluble en solución de hidróxido de sodio; miscible con alcohol, cloroformo, éter y ácido acético glacial.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver *100. Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,8 m × 3 mm con fase líquida constituida por un compuesto de polietilenglicol (p.m.p aproximadamente 15.000 [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido.]), sobre un soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C, de malla 60 a 80 [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad, pero no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector, la columna y el detector a aproximadamente 180, 200 y 280 °C, respectivamente. Se emplea helio como gas transportador. El tiempo de retención es aproximadamente 8 minutos. Presenta una pureza no menor a 98 %.

Índice de refracción - Entre 1,5430 y 1,5450, a 20 °C.

H

Hemateína - $C_{16}H_{12}O_6$ - (PM: 300,3) - Preparada a partir de extracto de leño o de hematoxilina por tratamiento con amoníaco y exposición al aire. Cristales pardos rojizos con un lustre metálico verde amarillento. Poco soluble en agua (aproximadamente 1 en 1700), alcohol y éter; insoluble en cloroformo; fácilmente soluble en solución diluida de amoníaco para formar una solución de color rojo púrpura oscuro y en solución acuosa de hidróxido de sodio (1 en 50) para formar una solución de color rojo brillante, observada en cada caso a través de una capa de 1 cm de profundidad. Funde a una temperatura por encima de 200 °C y tiende a descomponerse a 250 °C.

Hematoxilina - (*Hidroxibrasilina*) - $C_{16}H_{14}O_6 \cdot 3H_2O$ - (PM: 356,3) - Sustancia cristalina obtenida a partir del corazón del leño de *Haematoxylon campechianum* Linneo (Fam. Leguminosae). Prismas incoloros a amarillos. Muy poco soluble en agua fría y éter; rápidamente soluble en agua caliente y alcohol caliente. Cuando se expone a la luz, adquiere un color rojo y proporciona una solución amarilla. Se disuelve en amoníaco (SR) y en soluciones de hidróxidos alcalinos y carbonatos. Cuando se disuelve en solución de alumbre desarrolla un color rojo; en solución de cloruro estañoso un color rosa y en soluciones de sales cúpricas un color gris verdoso. Se torna gradualmente negro en solución de dicromato de potasio. Almacenar la hematoxilina y sus soluciones en envases inactivos y protegidas del aire.

Heparina - Emplear *Heparina Sódica*.

HEPES - (*Ácido N-(2-hidroxietil)piperazina-N'-2-etanosulfónico*) - $C_6H_{18}N_2O_4S$ - PM: 238,3 - Polvo blanco.

Punto de fusión - Aprox. 236 °C, con descomposición.

Heptadecanoato de metilo - $C_{18}H_{36}O_2$ - (PM: 284,5) - Escamas blancas, cristalinas.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μ m de fase estacionaria constituida por 90 % de 3-cianopropil silicona y 10 % de fenilmetilsilicona. Mantener el inyector y el detector a 220 °C. La temperatura de la columna se mantiene a 180 °C y se programa un ascenso de 4 °C por minuto hasta alcanzar 220 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico $C_{18}H_{36}O_2$ no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 31 y 32 °C.

n-Heptano - Ver *n-Heptano* para cromatografía.

n-Heptano para cromatografía - Líquido transparente, incoloro, volátil e inflamable; constituido esencialmente por C_7H_{16} . Presenta olor característico. Prácticamente insoluble en agua; soluble en alcohol absoluto. Miscible con éter, cloroformo y con la mayoría de los aceites fijos y volátiles.

[NOTA: el *n-Heptano* puede requerir purificación mediante el pasaje a través de una columna de gel de sílice, empleando una relación de aproximadamente 25 g de gel por cada 100 ml de *n-heptano* y destilación fraccionada posterior.]

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 94,5 y 99,0 °C.

Pureza espectral - Determinar la absorbancia en una celda de 1 cm, a 250 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando agua como blanco: no es mayor de 0,10.

Residuo en evaporación - Cumple con los requisitos del ensayo para *Residuo en evaporación en Éter de petróleo*.

1-Heptanosulfonato de sodio - $C_7H_{15}NaO_3S$ - (PM: 202,3) - Emplear uno de grado apropiado.

2,2',2'',6,6',6''-hexa-ter-butyl-4,4',4''-[(2,4,6-tri-metil-1,3,5-bencenotriil)trismetileno] trifenol - $C_{54}H_{78}O_3$ - (PM: 775) - Polvo cristalino, prácticamente insoluble en agua; soluble en acetona; poco soluble en alcohol. Punto de fusión: aproximadamente a 244°C.

Hexadecil hexadecanoato - (*Hexadecil palmitato; Palmitato de cetilo*) - $C_{32}H_{64}O_2$ - (PM: 480,9) - Emplear uno de grado apropiado.

Hexametildisilazano - $C_6H_{19}NSi_2$ - (PM: 161,4) - Líquido transparente, incoloro, de olor característico.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 1,8 m \times 2 mm con una fase estacionaria constituida por 50 % de fenil silicona y 50 % de metilpolisiloxano, sobre soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector

y el detector a 100 y 310 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 35 °C durante 5 minutos y se programa un ascenso de 8 °C por minuto hasta alcanzar 200 °C. Se emplea helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 40 ml por minuto. Presenta una pureza de no menos de 95 %.

Residuo después de la evaporación - Transferir 200 g a un cristizador y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Secar el residuo a 105 °C durante 1 hora, enfriar y pesar: no se encuentra más de 0,0025 % de residuo.

Hexametilenimina - (*Homopiperidina*) - $C_6H_{12}NH$ - (PM: 99,2) - Líquido incoloro a casi incoloro.

Índice de refracción - Entre 1,4640 y 1,4660, a 20 °C.

Hexametilentetramina - (*Hexamina; Metenamina; Urotropina*) - $C_6H_{12}N_4$ - (PM: 140,2) - Polvo cristalino incoloro, muy soluble en agua.

Hexanitrodifenilamina - (*Dipicrilamina*) - $C_{12}H_5N_7O_{12}$ - (PM: 439,2) - Polvo o prismas de color amarillo oro. *Precaución* - *Es explosivo*. Por lo general, contiene aproximadamente 15 % de agua como medida de seguridad. Insoluble en agua, alcohol, acetona y éter; soluble en ácido acético glacial y álcalis.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa*. No más de 16 %.

n-Hexano - C_6H_{14} - (PM: 86,2) - Para espectrofotometría generalmente es una mezcla de varios isómeros de hexano (C_6H_{14}), predominantemente *n*-hexano y metilciclopentano (C_6H_{12}). Emplear un reactivo analítico apropiado.

Hexanofenona - $C_{12}H_{16}O$ - (PM: 176,3) - Líquido amarillo.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m × 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de una fase estacionaria constituida por 50 % de fenil silicona y 50 % de metilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a 280 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 180 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico $C_{12}H_{16}O$ no es menor de 98 % del área total.

Índice de refracción <230> - $1,511 \pm 0,002$, a 20 °C.

Hexano solvente - Ver Éter de petróleo.

1-Hexanosulfonato de sodio - $C_6H_{13}NaO_3S$ - (PM: 188,2) - Emplear uno de grado apropiado.

Hexilamina - (*Hexanamina*) - $C_6H_{15}N$ - (PM: 101,2) - Líquido incoloro. Soluble en alcohol y éter; poco soluble en agua.

Índice de refracción <230> - Aprox. 1,418.

Intervalo de ebullición - Entre 127 y 131 °C.

Densidad relativa - Aprox. 0,766 a 20 °C.

Hidrato de cloral - Emplear *Hidrato de cloral*.

Hidrato de hidracina al 85 % en agua - $(NH_2)_2 \cdot H_2O$ - (PM: 50,1) - Líquido incoloro.

Valoración - Transferir 600 mg, exactamente pesados, a un matraz aforado de 100 ml. Completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 10 ml a un vaso de precipitados, agregar 1,0 g de bicarbonato de sodio y 50,0 ml de iodo 0,1 N (SV). Titular el exceso de iodo con tiosulfato de sodio 1 N (SV) empleando almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de iodo 0,1 N equivale a 12,52 mg de $(NH_2)_2 \cdot H_2O$. Contiene no menos de 83 %.

Hidrazida del ácido isonicotínico - Emplear *Isoniazida*.

Hidrógeno ftalato de potasio - (*Benceno-1,2-dicarboxilato ácido de potasio*) - $C_8H_5KO_4$ - (PM: 204,2) - Cristales blancos. Solubles en agua; poco solubles en alcohol.

Hidroperóxido de terbutilo - $C_4H_{10}O_2$ - (PM: 90,1) - Soluble en solventes orgánicos. Densidad relativa: aproximadamente 0,898. Índice de refracción: aproximadamente 1,401.

Hidroquinona - $C_6H_4(OH)_2$ - (PM: 110,1) - Cristales en forma de agujas finas, incoloras o blancas. Se oscurece por exposición al aire y a la luz. Soluble en agua, alcohol y éter.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 250 mg y disolver en una mezcla de 100 ml de agua y 10 ml de ácido sulfúrico 0,1 N en un erlenmeyer de 250 ml. Agregar 3 gotas de una solución (1 en 100) de difenilamina en ácido sulfúrico y titular con sulfato cérico 0,1 N (SV) hasta que la solución se torne color rojo violáceo. Cada mililitro de sulfato cérico 0,1 N equivale a 5,506 mg de $C_6H_4(OH)_2$. Contiene no menos de 99 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 172 y 174 °C.

Hidrosulfito de sodio - (*Ditionito de sodio*) - $Na_2S_2O_4$ - (PM: 174,1) - Polvo cristalino blanco o blanco grisáceo. Soluble en agua; poco soluble en alcohol. Se oxida gradualmente a bisulfito al aire, más fácilmente cuando está en solución, dando una reacción ácida. Es afectado por la luz.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 1 g, disolver en una mezcla de 10 ml de formaldehído (SR) y 10 ml de agua contenida en un erlenmeyer apropiado con tapón de vidrio y dejar reposar durante 30 minutos con agitación frecuente. Transferir la solución a un matraz aforado de 250 ml, agregar 150 ml de agua y 3 gotas de naranja de metilo (SR) y luego agregar ácido sulfúrico 1 N, gota a gota, hasta reacción levemente ácida. Diluir con agua a 250 ml y mezclar. A 50,0 ml de la solución, agregar 2 gotas de fenolftaleína (SR) y cantidad suficiente de hidróxido de sodio 0,1 N para producir un color rosado suave. Titular con iodo 0,1 N agregando 3 ml de almidón (SR) como indicador. Luego eliminar el color azul de la solución con 1 gota de tiosulfato de sodio 0,1 N y titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) hasta color rosado. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 3,482 mg de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$. Contiene no menos de 88 %.

Sulfuro - Agregar solución de hidróxido de sodio (1 en 10) a acetato de plomo (SR) hasta disolver el precipitado. Agregar 5 gotas de esta solución a una solución de 1 g de hidrosulfito de sodio en 10 ml de agua: no se observa oscurecimiento inmediato.

Metales pesados - Disolver 1 g en 10 ml de agua, agregar 10 ml de ácido clorhídrico y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Disolver el residuo en 20 ml de agua y 0,5 ml de ácido clorhídrico diluido, filtrar y agregar al filtrado 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): no se produce oscurecimiento. Alcalinizar la solución con amoníaco (SR): puede producirse un ligero color verdoso pero nunca un precipitado blanco u oscuro.

Aptitud para la valoración de riboflavina - Agregar a cada uno de dos o más tubos 10 ml de agua y 1,0 ml de una solución de riboflavina que contenga 20 μg de riboflavina por ml y mezclar. A cada tubo agregar 1,0 ml de ácido acético glacial, mezclar, agregar 0,5 ml de solución de permanganato de potasio (1 en 25) continuando con el mezclado y dejar reposar durante 2 minutos. A continuación agregar a cada tubo, 0,5 ml de peróxido de hidrógeno (SR) y mezclar: el color de permanganato desaparece dentro de los 10 segundos. Agitar los tubos vigorosamente hasta expulsar el exceso de oxígeno. Si quedan burbujas en las paredes de los tubos una vez finalizada la reacción, eliminarlas volcando los tubos para que la solución fluya lentamente desde un extremo al otro del tubo. En un fluorómetro apropiado, medir la fluorescencia de la solución. Luego agregar, mezclando, 8,0 mg de hidrosulfito de sodio: la riboflavina se reduce completamente en no más de 5 segundos.

3'-Hidroxiacetofenona - $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_2$ - (PM: 136,2) - Polvo, trozos pequeños o gruesos de color marrón claro. Funde aproximadamente a 96 °C. Moderadamente soluble en cloroformo, proporcionando una solución transparente amarillo clara.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con aceite de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a 300 °C. La temperatura de la columna se mantiene a 180 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 280 °C, manteniendo esa temperatura aproximadamente 10 minutos. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico principal no es menor de 97 % del área total.

4'-Hidroxiacetofenona - $\text{HOC}_6\text{H}_4\text{COCH}_3$ - (PM: 136,2) - Polvo gris, funde aproximadamente a 109°C.

1-Hidroxibenzotriazol hidrato - (PM: 135,1, anhidro) - $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}_3\text{O} \cdot x\text{H}_2\text{O}$ - Polvo cristalino blanco. Moderadamente soluble en alcohol produciendo una solución transparente de color amarillo claro.

Hidróxido de amonio - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Hidróxido de bario - $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 315,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Hidróxido de calcio - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Hidróxido de cuprietilendiamina, solución 1 M - Emplear una solución 1 M en la cual la relación molar entre etilendiamina y cobre sea de $2,00 \pm 0,04$.

Hidróxido de estroncio - (*Hidróxido de estroncio octahidratado*) - $\text{Sr}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 265,8) - Polvo blanco, cristalino. Moderadamente soluble en agua. Puede absorber dióxido de carbono del aire. Mantener perfectamente cerrado.

Valoración y carbonato - Pesar exactamente alrededor de 5 g, disolver en 200 ml de agua caliente en un erlenmeyer 500 ml con tapón de vidrio, agregar fenolftaleína (SR) y titular con ácido clorhídrico 1 N (SV) para determinar la alcalinidad del hidróxido. Luego agregar naranja de metilo (SR) y titular con ácido clorhídrico 1 N (SV). Cada mililitro de ácido clorhídrico 1 N requerido para llegar al punto final de fenolftaleína equivale a 132,9 mg de $\text{Sr}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ y cada mililitro adicional de ácido clorhídrico 1 N (SV) requerido para llegar al punto final con naranja de metilo equivale a 73,8 mg de

SrCO_3 . Contiene no menos de 95,0 % de $\text{Sr}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ y no más de 3,0 % de SrCO_3 .

Cloruro (Ensayo para reactivos) - Disolver 1,0 g en 100 ml de agua y filtrar si fuera necesario: 1,0 ml de la solución no presenta más de 0,01 mg de Cl (0,1%).

Calcio (Ensayo para reactivos) -

Solución madre de la muestra - Disolver 5,0 g en agua y diluir con agua a 100 ml.

Solución muestra - Diluir 10,0 ml de la *Solución madre de la muestra* con agua a 100 ml.

Solución control - Agregar 0,50 mg de ion calcio (Ca) a 10,0 ml de la *Solución madre de la muestra* y diluir con agua a 100 ml.

Procedimiento - Determinar la emisión de fondo a 416,7 nm. No más de 0,1 %.

Hierro - Disolver 1 g en agua caliente y diluir con agua a 100 ml. A 20 ml de esta solución agregar 2 ml de ácido clorhídrico y 0,1 ml de permanganato de potasio 0,1 N, dejar reposar durante 5 minutos y agregar 3 ml de solución de tiocianato de amonio (3 en 10). Cualquier color rojo producido no es más oscuro que el de un control que contenga 0,03 mg de Fe (0,015%).

Metales pesados - Preparar la *Solución muestra* del siguiente modo: disolver 2,0 g en 14 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 6) y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad; absorber el residuo en 25 ml de agua, filtrar y diluir con agua a 100 ml. Agregar a 5,0 ml de la *Solución muestra* 0,02 mg de plomo (Pb) y diluir con agua a 30 ml, para obtener el control. Para la muestra, emplear 30 ml de la *Solución muestra*. Ajustar cada solución con ácido acético o amoníaco (SR) hasta pH entre 3,0 y 4,0 (empleando papel de pH de intervalo estrecho), diluir con agua a 40 ml y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno recientemente preparado (SR): cualquier color pardo desarrollado en la *Solución muestra* no es más oscuro que el de la solución preparada a partir del control (0,004%).

Hidróxido de litio - $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ - (PM: 42,0) - Cristales blancos. Soluble en agua; insoluble en alcohol.

Valoración - Disolver aproximadamente 160 mg, exactamente pesados, en 50 ml de agua, agregar fenolftaleína (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,1 N (SV) hasta punto final incoloro. Cada mililitro de ácido clorhídrico 0,1 N equivale a 4,196 mg de $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$. Contiene no menos de 98 %.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1,0 mg, determinado sobre 10 g (0,01 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 200 mg no presentan más de 0,02 mg de Cl (0,01 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método I*. Disolver 400 mg en 10 ml de agua y neutralizar con ácido clorhídrico 3 N. Agregar 0,1 ml de bromo (SR), calentar a ebullición para remover el bromo en exceso, agregar 2 ml de ácido clorhídrico 3 N, filtrar y diluir con agua a 40 ml: 20 ml de esta solución no presentan más de 0,10 mg de SO_4 (0,05 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 0,002 %.

Hierro <580> - No más de 0,02 mg de Fe (0,002%), determinado sobre 1 g.

Hidróxido de potasio - KOH - (PM: 56,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Hidróxido de sodio - NaOH - (PM: 40,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Hidróxido de tetrabutilamonio al 40 % en agua - $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4\text{NOH}$ - (PM: 259,5) - Emplear uno de grado apropiado.

Hidróxido de tetrabutilamonio 1,0 M en metanol - Emplear uno de grado apropiado.

Hidróxido de tetrametilamonio - $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$ - (PM: 91,2) - Disponible como una solución acuosa de aproximadamente 10 ó 25 % o como pentahidrato cristalino. Es transparente e incolora y tiene un fuerte olor a amoníaco. El hidróxido de tetrametilamonio es una base más fuerte que el amoníaco y absorbe rápidamente dióxido de carbono del aire. Almacenar en envases de cierre perfecto.

Valoración - Pesar exactamente un erlenmeyer con tapón de vidrio que contenga aproximadamente 15 ml de agua. Agregar una cantidad de una solución de hidróxido de tetrametilamonio, equivalente a 200 mg de $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$ y pesar nuevamente. Agregar rojo de metilo (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,1 N (SV). Cada mililitro de ácido clorhídrico 0,1 N equivale a 9,115 mg de $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$.

Residuo de evaporación - Evaporar 5 ml de solución en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: el peso del residuo equivale a no más de 0,02 % del peso de la muestra.

Amoníaco y otras aminas - Pesar exactamente una cantidad de solución, equivalente a aproximadamente 300 mg de $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$, en un recipiente de pesaje bajo, previamente pesado, con 5 ml de agua. Agregar un leve exceso de ácido clorhídrico 1 N (aproximadamente de 4 ml), evaporar en un baño de vapor hasta sequedad y secar a 105 °C durante 2 horas: el peso del cloruro de tetrametilamonio obtenido, multiplicado por 0,8317, representa la cantidad, en mg, de $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$ en la porción de muestra tomada y corresponde a aproximadamente 0,2 %

por encima o por debajo del valor encontrado en la *Valoración*.

Hidróxido de tetrametilamonio pentahidrato - $(\text{CH}_3)_4\text{NOH} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 181,2) - Cristales blancos a casi blancos. Es higroscópico. Base fuerte. Almacenar en envases bien cerrados. Soluble en agua y metanol.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 800mg, disolver en 100 ml de agua y titular con ácido clorhídrico 0,1 N (SV) determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido clorhídrico 0,1 N equivale a 18,22 mg de $(\text{CH}_3)_4\text{NOH} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Contiene no menos de 98 %.

Hidróxido de tributiletilamonio - $\text{C}_{14}\text{H}_{33}\text{NO}$ - (PM: 231,4) - Emplear uno de grado apropiado.

Hidróxido de (*m*-trifluorometilfenil) trimetilamonio en metanol - Emplear uno de grado apropiado.

***D-d-4*-Hidroxifenilglicina** - $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_3$ - (PM: 167,2) - Escamas brillosas. Moderadamente soluble en agua, alcohol, acetona, éter, cloroformo, acetato de etilo y ácido acético glacial; soluble en álcalis y ácidos minerales; fácilmente soluble en ácido clorhídrico caliente al 20 % v/v.

Intervalo de fusión <260> - Entre 220 y 247 °C, con descomposición.

10 β -Hidroxinorandrostenodiona - (*10 β -Hidroxi-19-norandrost-4-en-3,17-diona*) - $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_3$ - (PM: 288,4) - Emplear uno de grado apropiado.

8-Hidroxiquinolina - (*Oxina*) - $\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}$ - (PM: 145,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Hiperósido - (*2-(3,4-Dihidroxifenil)-3- β -D-galactopiranosiloxi-5,7-dihidroxicromen-4-ona*) - $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$ - (PM: 464,4) - Agujas amarillo pálido, solubles en metanol.

Punto de fusión <260> - Aprox. 240 °C, con descomposición.

Rotación específica <170> - - 8,3 °, determinada a 20 °C en una solución que contenga 2 mg por ml en piridina.

Absorción ultravioleta <470> - Debe presentar dos máximos de absorción a 259 y 364 nm en una solución apropiada en metanol.

Hipoxantina - (*1H-Purin-6-ona*) - $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}$ - (PM: 136,1) - Polvo cristalino blanco, muy poco soluble en agua; bastante soluble en agua a ebullición; soluble en soluciones diluidas de ácidos y en soluciones diluidas de hidróxidos alcalinos. Se descompone sin fundir a aproximadamente 150 °C.

Cromatografía - Analizar según se indica en *Mercaptopurina*, el cromatograma sólo presenta una mancha principal.

I

Imidazol - $C_3H_4N_2$ - (PM: 68,1) - Cristales color blanco a amarillo claro. Fácilmente soluble en agua.

Valoración - Transferir aproximadamente 700 mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados de 250 ml. Disolver en 100 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 6,808 mg de $C_3H_4N_2$. Contiene no menos de 98 %.

Iminoestilbeno - $C_{14}H_{11}N$ - (PM: 193,2) - Polvo amarillo anaranjado. Moderadamente soluble en acetato de etilo.

Intervalo de fusión <260> - Entre 197 y 201 °C.

Iminodibencilo - $C_{14}H_{13}N$ - (PM: 195,3) - 10,11-Dihidrodibenz[*b,f*]azepina - Polvo cristalino, amarillo pálido. Fácilmente soluble en acetona; prácticamente insoluble en agua.

Punto de fusión - Aproximadamente 106 °C.

Indeno - C_9H_8 - (PM: 116,2) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 10 m × 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de metilsilicona. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 200 y 300°C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 100 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 250 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de indeno no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,5749 y 1,5769, a 20 °C.

Índigo carmín - (*Indigotindisulfonato sódico*) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Inositol - (*Hexahidroxiciclohexano*) - $C_6H_6(OH)_6$ - (PM: 180,2) - Cristales blancos o polvo blanco, cristalino, inodoro y estable al aire. Sus soluciones son neutras al papel de tornasol. Ópticamente inactivo. Fácilmente soluble en agua; poco soluble en alcohol; insoluble en éter y cloriformo. Almacenar en envases bien cerrados.

Intervalo de fusión <260> - Entre 223 y 226 °C.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 4 horas: no pierde más de 0,5 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,1 %.

Iodato de potasio - KIO_3 - (PM: 214,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Iodo - I - (PA: 126,90) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

5-Iodouracilo - $C_4H_3IN_2O_2$ - (PM: 238,0).

Punto de fusión <260> - Aprox. 276 °C, con descomposición.

Cromatografía - Analizar según se indica en *Sustancias relacionadas* para *Idoxiuridina* empleando 5 μl de una solución de 5-iodouracilo de 0,25 mg por ml. El cromatograma sólo presenta una mancha principal.

Ioduro de 1-etilquinaldino - $C_{12}H_{14}IN$ - (PM: 299,2) - Sólido verde amarillo. Moderadamente soluble en agua.

Valoración - Disolver aproximadamente 290 mg, exactamente pesados, en 100 ml de agua y agregar 10 ml de ácido acético glacial. Titular con nitrato de plata 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente, empleando un electrodo selectivo para iones plata y un electrodo de referencia de calomel que contiene nitrato de potasio 1 M. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 29,92 mg de $C_{12}H_{14}IN$. Contiene no menos de 97,0 %.

Ioduro de mercurio II - (*Diioduro de mercurio*) - HgI_2 - (PM: 454,4) - Polvo cristalino, denso, rojo escarlata. Poco soluble en agua; soluble en acetona, alcohol, éter y solución de ioduro de potasio en exceso. Almacenar en envase inactivo.

Ioduro de metilo - CH_3I - (PM: 141,9) - Líquido incoloro, pesado, transparente. Poco soluble en agua. Miscible con alcohol, éter y éter de petróleo. Se torna pardo por exposición a la luz como resultado de la liberación de iodo.

Valoración - Agregar 1 ml a un matraz aforado de 100 ml previamente pesado con 10 ml de alcohol. Pesar nuevamente, completar a volumen con alcohol y mezclar. Transferir 20 ml a un erlenmeyer con tapón de vidrio y agregar 50,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV) y 2 ml de ácido nítrico. Tapar inmediatamente, agitar con frecuencia durante 2 horas y dejar reposar en la oscuridad de la noche a la mañana. Agitar nuevamente durante 2 horas luego agregar 50 ml de agua y 3 ml de sulfato férrico amónico y titular el nitrato de plata en exceso con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 14,19 mg de CH_3I . Contiene no menos de 98,5 %.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Destilar 50 ml en un recipiente enfriado, parcialmente tapado: no destila menos de 48 ml entre 41,5 y 43 °C.

Densidad - Entre 2,270 y 2,285.

Residuo de evaporación - Evaporar 4 ml (10 g) en un baño de vapor y secar el residuo a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 1 mg (0,01 %).

Acidez - Agitar 3 ml con 5 ml de agua durante 30 segundos y de inmediato extraer la fase inferior: la fase acuosa es neutra frente al tornasol y cuando se agrega 1 ml de nitrato de plata (SR), no presenta más que una leve opalescencia.

Ioduro de potasio - KI - (PM: 166,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Ioduro de tetrabutilamonio - $(C_4H_9)_4NI$ - (PM: 369,4) - Escamas blancas, brillosas, cristalinas. Soluble en alcohol y éter; poco soluble en agua.

Valoración - Disolver 200 mg, exactamente pesados, en 40 ml de agua hirviendo, con agitación vigorosa y enfriar a temperatura ambiente. Agitar la solución mecánicamente, agregar 5 ml de ácido nítrico 2 N. Titular con nitrato de plata 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente, empleando un electrodo de plata y vidrio y agregando la solución titulante en porciones de 0,1 ml cerca del punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 36,94 mg de $(C_4H_9)_4NI$. Contiene no menos de 99,0 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 146 y 147 °C.

Ioduro isopropílico - (*2-Iodopropano*) - C_3H_7I - (PM: 170,0) - Líquido incoloro, se descolora con exposición al aire y a la luz. Moderadamente soluble en agua; miscible con alcohol, cloroformo y éter.

Densidad - Entre 1,696 y 1,704.

Índice de refracción - Entre 1,4987 y 1,4997 a 20°C.

4-Isobutilacetofenona - $C_{12}H_{16}O$ - (PM: 176,0) - Líquido amarillo pálido. Soluble en cloroformo, glicerol, alcoholes, éter y aceites grasos; insoluble en agua. Emplear uno de grado apropiado.

N-Isobutilpiperidona - $C_9H_{17}NO$ - (PM: 155,2) - Emplear uno de grado apropiado.

Isooctano - Ver 2,2,4-Trimetilpentano.

Isopropilamina - (*2-Aminopropano*) - $C_3H_7NH_2$ - (PM: 59,1) - Líquido transparente, incoloro, inflamable con un olor fuerte a amoníaco. Miscible con agua, alcohol y éter.

Valoración - Transferir aproximadamente 200 mg, exactamente pesados, a un envase apropiado, agregar 50 ml de agua y mezclar. Titular con ácido clorhídrico 0,1 N (SV), empleando una mezcla de verde de bromocresol (SR) y rojo de metilo (SR) (5:1) como indicador. Cada mililitro de ácido clorhídrico 0,1 N equivale a 59,11 mg de C_3H_9N . Contiene no menos de 98 %.

Intervalo de ebullición (Ensayo para Reactivos) - No menos de 95 % destila entre 31 y 33 °C.

Índice de refracción - Entre 1,3743 y 1,3753, a 20 °C.

L

Lactato de calcio - (PM: 308,3) - $(\text{CH}_3\text{CHOHCOO})_2\text{Ca} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - Gránulos o polvo blanco, casi inodoro. Es algo eflorescente y a 120°C se convierte en anhidro. Soluble en agua; prácticamente insoluble en alcohol. Almacenarlo en envases de cierre perfecto.

Valoración - Pesar exactamente 500 mg, previamente secados a 120°C durante 4 horas, transferir a un envase apropiado y disolver con 150 ml de agua que contiene 2 ml de ácido clorhídrico diluido. Agregar 15 ml de hidróxido de sodio (SR) y 300 mg de azul de hidroxinaftol y titular con edetato disódico 0,05 M (SV) hasta que la solución tenga color azul profundo. Cada mililitro de edetato disódico 0,05 M equivale a 10,91 mg de $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{CaO}_6$. Contiene no menos de 98 %.

Pérdida por secado <680> - Secar a 120°C durante 4 horas: pierde entre 25,0 y 30,0 % de su peso.

Acidez - Agregar fenolftaleína (SR) a 20 ml de una solución (1 en 20) y titular con hidróxido de sodio 0,10 N: no se requiere más de 0,50 ml para producir un color rosado.

Metales Pesados (Ensayo para reactivos) - Disolver 1 g en 2,5 ml de ácido clorhídrico diluido, diluir con agua a 40 ml y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): cualquier color pardo producido no es más oscuro que el de un control que contiene 0,02 mg de Pb (0,002 %).

Magnesio y sales alcalinas - Mezclar 1 g con 40 ml de agua, agregar cuidadosamente 5 ml de ácido clorhídrico calentar a ebullición la solución durante 1 minuto y agregar rápidamente 40 ml de ácido oxálico (SR). Agregar de inmediato a la mezcla caliente 2 gotas de rojo de metilo (SR) luego agregar amoníaco (SR) gota a gota, desde una bureta, hasta que la mezcla sea alcalina. Enfriar a temperatura ambiente, transferir a una probeta de 100 ml, diluir con agua a 100 ml, mezclar y dejar reposar durante 4 horas o durante toda la noche. Filtrar y transferir a un crisol de platino 50 ml del filtrado transparente, al cual se ha agregado 0,5 ml de ácido sulfúrico. Evaporar la mezcla en un baño de vapor a un volumen pequeño. Cuidadosamente calentar sobre una llama directa hasta sequedad y continuar calentando hasta descomposición completa y volatilización de las sales de amonio. Finalmente incinerar el residuo a $800 \pm 25^\circ\text{C}$ durante 15 minutos: el residuo no pesa más de 5 mg (1 %).

Ácidos grasos volátiles - Agitar aproximadamente 500 mg con 1 ml de ácido sulfúrico y calentar: la mezcla no emite olor de ácidos grasos volátiles.

Lactosa - $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ - (PM: 342,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

α -Lactosa monohidrato - $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} \cdot \text{H}_2\text{O}$ - (PM: 360,3) - Polvo blanco. El contenido de β -lactosa no debe ser mayor a 3 %.

Valoración - Inyectar una alícuota derivatizada y apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de $30\text{ m} \times 0,25\text{ mm}$ recubierta con una capa de $1\ \mu\text{m}$ de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 250 y 280°C , respectivamente. La temperatura de la columna se debe mantener a 230°C y se debe programar un ascenso de 4°C por minuto hasta 280°C . Se debe emplear helio como gas transportador. La respuesta del pico $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} \cdot \text{H}_2\text{O}$ no debe ser menor de 97 % de la respuesta total.

β -Lactosa - $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ - (PM: 342,3) - Polvo blanco a amarillo tenue. El contenido de α -lactosa no debe ser mayor a 35 %.

Valoración - Inyectar una alícuota derivatizada y apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de $30\text{ m} \times 0,25\text{ mm}$ recubierta con una capa de $1\ \mu\text{m}$ de fase estacionaria constituida por 94 % de dimetilpolisiloxano y 6 % de cianopropilfenil polisiloxano (los porcentajes se refieren a la sustitución molar). Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 250°C . La temperatura de la columna se debe mantener a 20°C y se debe programar un ascenso de 8°C por minuto hasta 280°C . Se debe emplear helio como gas transportador. La respuesta del pico $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ no debe ser menor de 99 % de la respuesta total.

Lana de vidrio - Finos hilos de vidrio.

Sustancias solubles en ácidos - Calentar a ebullición 1 g durante 30 minutos con 30 ml de ácido clorhídrico diluido y filtrar. Evaporar el filtrado y secar el residuo a 105°C hasta peso constante: el residuo no pesa más de 5 mg (0,5 %).

Metales pesados - Calentar a ebullición 2 g con una mezcla de 25 ml de ácido nítrico diluido y 25 ml de agua durante 5 minutos y filtrar. Evaporar la mitad del filtrado hasta sequedad, disolver el residuo en 10 ml de agua a la cual se le han agregado 3 gotas de ácido clorhídrico, filtrar si fuera necesario y agregar un volumen igual de sulfuro de

hidrógeno (SR) al filtrado: no se produce oscurecimiento.

Lauril sulfato de sodio - Ver Dodecil sulfato de sodio.

Limoneno - (*D-Limoneno*;
(*R*)-4-Isopropenil-1-metilciclohex-1-eno;
(+)-*p*-menta-1,8-dieno) - $C_{10}H_{16}$ - (PM: 136,2) - Líquido incoloro; soluble en alcohol, prácticamente insoluble en agua.

Densidad relativa <160> - Aprox. 0,84.

Índice de refracción <230> - Entre 1,471 y 1,474.

Rotación específica <170> - Entre +96° y +106°.

Punto de ebullición <240> - Entre 175 y 177 °C.

Para uso en cromatografía de gases, debe cumplir con el siguiente ensayo.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 60 m × 0,25 mm recubierta con una capa de fase estacionaria constituida por

goma de polietilenglicol 20.000. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 220 °C. La temperatura de la columna se debe mantener a 60 °C durante 10 minutos, se programa un ascenso de 2 °C por minuto hasta 180 °C, y mantener a esta temperatura durante 5 minutos. Se emplea helio como gas transportador, el caudal debe ser aproximadamente 1,5 ml por minuto. La respuesta del pico principal no debe ser menor de 99,0 % de la suma de las respuestas de todos los picos.

L-Lisina - (*Ácido 2,6-diaminohexanoico*) - (PM: 146,2) - $C_6H_{14}N_2O_2$ - Agujas cristalinas o placas hexagonales. Soluble en agua; poco soluble en alcohol; insoluble en éter.

Rotación específica <170> - Entre +25,5° y +26,0°, determinado en ácido clorhídrico diluido (1 en 2).

Determinación de nitrógeno <200> - *Método I*. Contiene entre 18,88 y 19,44 % de N que corresponde a no menos de 98,5 % de $C_6H_{14}N_2O_2$, habiendo secado la muestra previamente a 105 °C durante 2 horas.

M

Magnesio - Mg - (PA: 24,31) - Metal plateado en forma de cinta. Reacciona lentamente con agua a temperatura ambiente. Se disuelve fácilmente en ácidos diluidos con liberación de hidrógeno.

Valoración - Transferir 1 g, exactamente pesado, a un matraz aforado de 250 ml y disolver en una mezcla de 15 ml de ácido clorhídrico y 85 ml de agua. Cuando se completa la disolución, diluir a volumen con agua y mezclar. Transferir 25 ml de la dilución a un vaso de precipitados de 400 ml, diluir con agua a 250 ml, agregar 20 ml de solución reguladora de amoníaco-cloruro de amonio (SR) y unos mg de negro de eriocromo T triturado y titular con edetato disódico 0,1 M (SV) hasta punto final azul. Cada mililitro de edetato disódico 0,1 M (SV) equivale a 2,430 mg de Mg. Contiene no menos de 99 %.

Magnesio, óxido de - MgO - (PM: 40,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Maleato de bis(2-etilhexilo) - $C_{20}H_{36}O_4$ - (PM: 340,5) - Líquido transparente incoloro a amarillo pálido. Miscible con acetona y alcohol. Densidad relativa: aproximadamente 0,945.

Valoración - Transferir aproximadamente 2,5 g, exactamente pesados, a un erlenmeyer de 250 ml, agregar 50,0 ml de hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N (SV) y calentar a reflujo durante 45 minutos. Enfriar, agregar 0,5 ml de fenoltaleína (SR) y titular el álcali en exceso con ácido clorhídrico 0,5 N (SV). Realizar una determinación con un blanco al mismo tiempo, empleando la misma cantidad de hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N (ver *Titulaciones residuales* en 780. *Volumetría*). La diferencia, en ml, entre los volúmenes de ácido clorhídrico 0,5 N consumidos en la titulación de la muestra y la titulación del blanco, multiplicada por 85,1, representa la cantidad, en mg, de maleato de bis(2-etilhexilo) en la porción tomada. Contiene no menos de 97 %.

Manganeso - Mn - (PA: 54,94) - Emplear uno de grado apropiado.

Manitol - Emplear *Manitol*.

Melamina - (1,3,5-Triazina-2,4,6-triamina) - $C_6H_6N_6$ - (PM: 126,1) - Polvo blanco amorfo. Muy soluble en agua y alcohol.

Menadiona - Emplear *Menadiona*.

Mentol -
((1 α ,2 β ,5 α)-5-Metil-2-(1-metiletil)-ciclohexanol) - $C_{10}H_{20}O$ - (PM: 156,3) - Cristales o gránulos.

Muy soluble en alcohol, cloroformo, éter y éter de petróleo; fácilmente soluble en ácido acético glacial y parafina líquida; moderadamente soluble en agua.

Intervalo de fusión <260> - Entre 41 y 43 °C.

Rotación óptica <170> - Aprox. - 50°, determinado sobre una solución de 100 mg por ml en alcohol.

Mercaptopurina - $C_5H_4N_4S \cdot H_2O$ - (PM: 170,2) - 7H-purina-6-tiol - Emplear un reactivo analítico apropiado de una pureza no menor de 98 %.

Mercurio - Hg - (PA: 200,59) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Metabisulfito de sodio - $Na_2S_2O_5$ - (PM: 190,1) - Emplear *Metabisulfito de sodio*.

Metaborato de litio - $LiBO_2$ - (PM: 49,8) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Metacresol - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Metacrilato de metilo - Emplear uno de grado apropiado.

Metanol - (*Alcohol metílico*) - CH_3OH - (PM: 32,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Metanol anhidro - Ver Metanol.

Metanol para cromatografía de líquidos - Debe contener no menos de 99,8 por ciento de CH_4O (PM: 32,0).

Absorbancia - La absorbancia a 225 nm empleando agua como blanco, no debe ser mayor a 0,17.

Metanol para espectrofotometría - Emplear Metanol apropiado para uso en espectrofotometría ultravioleta.

Metaperiodato de sodio - $NaIO_4$ - (PM: 213,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Metilamina al 40 % en agua - CH_5N - (PM: 31,1) - Líquido incoloro.

Valoración - Empleando una jeringa, transferir aproximadamente 0,5 ml de una muestra bien agitada a 100 ml de agua en un punto debajo de la superficie del agua. Determinar el peso de la muestra pesando la jeringa antes y después de la transferencia. Mezclar y titular con ácido clorhídrico 0,5 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente, empleando un electrodo de plata-cloruro de plata y un electrodo de referencia de calomel.

Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido clorhídrico 0,5 N equivale a 15,53 mg de CH₃N. Contiene entre 39,0 y 41,0 %.

Índice de refracción - Entre 1,3680 y 1,3710, a 20 °C.

Metilbenzotiazolona-hidrazona, clorhidrato de - (*Clorhidrato de 3-metilbenzotiazol-2(3H)-ona hidrazona, monohidrato*) - C₈H₁₀ClN₃S · H₂O - (PM: 233,7) - Polvo blanco cristalino o amarillento.

Punto de fusión - Aprox. 207 °C.

Ensayo de validez para la determinación de aldehídos - A 2 ml de metanol libre de aldehído agregar 60 µl de una solución de 1 mg de propionaldehído por ml de metanol libre de aldehído y 5 ml de una solución de 4 mg de clorhidrato de metilbenzotiazolona-hidrazona por ml. Mezclar y dejar en reposo durante 30 minutos. Preparar una solución blanco sin propionaldehído. Agregar 25 ml de una solución de 2 mg de cloruro férrico por ml a la solución muestra y a la solución blanco y diluir a 100 ml con acetona. La absorbancia a 660 nm empleando la solución blanco no debe ser menor a 0,62.

Metilcloroformo - (*1,1,1-Tricloroetano*) - (PM: 133,4) - CH₃CCl₃ - Líquido incoloro, pesado. Insoluble en agua pero algo higroscópico. Miscible con alcohol, éter y cloroformo.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Destilar 100 ml: la diferencia entre las temperaturas observadas cuando se destilan 1 y 95 ml no excede 16 °C. Su temperatura de ebullición a una presión de 760 mm Hg es aproximadamente 74 °C.

Densidad relativa <160> - Entre 1,312 y 1,321.

Acidez - Agregar 25 ml a 25 ml de alcohol neutralizado, frente al azul de bromotimol (SR), con hidróxido de sodio 0,02 N. Mezclar suavemente y titular con hidróxido de sodio 0,020 N (SV): no se requiere más de 0,50 ml para restaurar el color azul (0,001 % como HCl).

Residuo de evaporación - Evaporar 76 ml en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 1 mg (aproximadamente 0,001 %).

Metilbisacrilamida - (*N,N-metilendipropenamida*) - C₇H₁₀N₂O₂ - (PM: 154,2) - Polvo fino y casi blanco. Poco soluble en agua; soluble en alcohol.

Punto de fusión - Funde con descomposición por encima de los 300 °C.

3-O-Metilestrona - C₁₉H₂₄O₂ - (PM: 284,4) - Emplear uno de grado apropiado.

Metil etil cetona - (*2-Butanona*) - CH₃COC₂H₅ - (PM: 72,1) - Líquido incoloro, de olor similar a la acetona. Soluble en agua. Miscible con alcohol y éter.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 79,0 y 81,0 °C.

Densidad relativa <160> - Entre 0,801 y 0,803.

Residuo de evaporación - Evaporar 50 ml en un baño de vapor y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 1,0 mg (0,0025 %).

Acidez - Agregar 25 ml a 10 ml de alcohol al 80 %, previamente neutralizado a la fenoltaleína (SR) con hidróxido de sodio 0,02 N. Titular con hidróxido de sodio 0,020 N (SV) hasta la aparición de un color rosado que persiste no menos de 15 segundos: no se requieren más de 0,50 ml (0,003 % como CH₃COOH).

Solubilidad en agua - Agregar 5 ml a 40 ml de agua y dejar reposar durante 20 minutos: la solución permanece transparente.

Metil isobutil cetona - Ver 4-Metil-2-pentanona.

N-Metil-N-nitroso-p-toluensulfonamida - (*p-Tolilsulfonilmetilnitrosamina*) - C₈H₁₀N₂O₃S - (PM: 214,2) - Polvo o cristales amarillo claro. Insoluble en agua; soluble en tetracloruro de carbono y cloroformo.

Intervalo de fusión <260> - Entre 59 y 63 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 2 °C.

2-Metil-5-nitroimidazol - C₄H₅N₃O₂ - (PM: 127,1) - Polvo blanco a amarillo pálido.

Intervalo de fusión - Entre 252 y 254 °C.

Metilparabeno - (*Ester del ácido metil p-hidroxibenzoico*) - C₈H₈O₃ - (PM: 152,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

3-Metil-2-pentanona - C₆H₁₂O - (PM: 100,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

4-Metil-2-pentanona - (*Isobutil Metil Cetona*) - (CH₃)₂CHCH₂COCH₃ - (PM: 100,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

2-Metil-2-propanol - Ver Alcohol terbutílico.

2-Metil-2-propil-1,3-propanodiol - C₇H₁₆O₂ - (PM: 132,2) - Cristales blancos, que funden aproximadamente a 58 °C.

Metilsulfóxido - (*Dimetilsulfóxido*) - (CH₃)₂SO - (PM: 78,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

p-Metoxibenzaldehído - Ver Anisalaldehído.

Metóxido de sodio - CH₃ONa - (PM: 54,0) - Polvo blanco fino. Reacciona violentamente con

agua con desprendimiento de calor. Soluble en alcohol y metanol.

Valoración - Transferir aproximadamente 220 mg a un erlenmeyer previamente pesado, con tapón de vidrio y pesar exactamente. Disolver la muestra en aproximadamente 10 ml de metanol, luego agregar 100 ml de agua lentamente, con agitación. Agregar fenoltaleína (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,1 N (SV) hasta punto final incoloro. Cada mililitro de ácido clorhídrico 0,1 N (SV) equivale a 5,402 mg de CH₃ONa. Contiene no menos de 98,0 %.

Metoxietanol - (*Etilenglicol monometil éter; 2-Metoxietanol*) - CH₃OCH₂CH₂OH - (PM: 76,1) - Líquido transparente, incoloro a ligeramente amarillo. Miscible con agua, acetona, alcohol, éter, dimetilformamida y glicerina. Índice de refracción: aproximadamente 1,420. *Precaución* - *Es venenoso; emplear con ventilación apropiada.*

Densidad relativa <160> - Entre 0,960 y 0,964.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Destilar 100 ml: 95 % destila entre 123 y 126 °C.

Acidez - A 62 ml (60 g) agregar fenoltaleína (SR) y titular con hidróxido de potasio alcohólico 0,1 N: no se requiere más de 1 ml para producir un punto final rosado que persiste no menos de 15 segundos (0,01 % como CH₃COOH).

Ensayo de dilución - Medir 10 ml en una probeta de 100 ml con tapón de vidrio. Diluir con agua a 100 ml, insertar el tapón y mezclar: no se observa opalescencia o turbidez después de que la mezcla se ha dejado reposar a temperatura ambiente durante 2 horas.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa.* No más de 0,05 %.

3-Metoxi-L-tirosina - C₁₀H₁₃NO₄H₂O - (PM: 229,2) - Polvo amarillo o blanco.

Miristato de isopropilo - C₁₇H₃₄O₂ - (PM: 270,5) - Emplear *Miristato de isopropilo*. Para emplear como solvente en los procedimientos de ensayo para esterilidad, el miristato de isopropilo se ajusta a la siguiente especificación adicional:

pH del extracto acuoso - Transferir 100 ml a un tubo de centrifuga de 250 ml, agregar 10 ml de agua, cerrar el tubo con un cierre apropiado y agitar vigorosamente durante 60 minutos. Centrifugar la mezcla a 1.800 rpm durante 20 minutos, aspirar la fase superior (miristato de isopropilo) y determinar el pH de la fase acuosa: el pH no es menor de 6,5.

Si el miristato de isopropilo no se ajusta al ensayo de *pH del extracto acuoso* se puede adecuar para emplearse en procedimientos de ensayo de esterilidad del siguiente modo:

Empleando una columna de vidrio de 20 cm × 20 mm, agregar alúmina activada y apiso-

narla hasta una altura de 15 cm. Pasar 500 ml del miristato de isopropilo a través de la columna, emplear una leve presión positiva para mantener un caudal constante y emplear el eluato recolectado directamente en el procedimiento de ensayo de esterilidad.

Miristicina - (*5-Alil-1-metoxi-2,3-metilendioxi-benceno*) - C₁₁H₁₂O₃ - (PM: 192,2) - Líquido oleoso, incoloro, prácticamente insoluble en agua; poco soluble en etanol; soluble en éter; miscible en tolueno y xileno.

Densidad relativa <160> - Aproximadamente 1,144, a 20 °C.

Índice de refracción <230> - Aproximadamente 1,540, a 20 °C.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 276 y 277 °C.

Molibdato de sodio - Na₂MoO₄ · 2H₂O - (PM: 242,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Molibdato de amonio - (NH₄)₆Mo₇O₂₄ · 4H₂O - (PM: 1.235,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Monocloruro de iodo - ICl - (PM: 162,4) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Monoetanolamina - C₂H₇NO - (PM: 61,1) - Líquido transparente, incoloro a débilmente amarillo, viscoso, con olor amoniacal. Miscible con agua, metanol y acetona. Funde aproximadamente a 9 °C.

Valoración - Pesar exactamente un pesafiltro con tapón de vidrio que contiene 25 ml de agua. Agregar aproximadamente 2 g de muestra, tapar, y nuevamente pesar con exactitud. Agregar 3 gotas de una mezcla indicadora preparada agregando 5 volúmenes de verde de bromocresol (SR) a 6 volúmenes de rojo de metilo (SR) (preparada a partir de clorhidrato de rojo de metilo) y titular con ácido clorhídrico 1 N (SV). Cada mililitro de ácido clorhídrico 1 N (SV) equivale a 61,08 mg de C₂H₇NO. Contiene no menos de 99 %.

Índice de refracción <230> - Entre 1,453 y 1,455, a 20 °C.

Residuo de ignición <270> - Evaporar 20 g en un baño de vapor hasta sequedad y calcinar el residuo a 800 ± 25 °C durante 15 minutos: el residuo no pesa más de 1 mg (0,005 %).

Monóxido de plomo - (*Litargirio*) - PbO - (PM: 223,2) - Polvo amarillo pesado, amarillento o rojizo. Insoluble en agua y alcohol; soluble en ácido acético, ácido nítrico diluido y en soluciones calientes de hidróxidos alcalinos fijos.

Valoración - Pesar exactamente 300 mg, someter a ignición rápidamente en una mufla a

600 ± 50 °C y disolver mediante calentamiento con 10 ml de agua y 1 ml de ácido acético glacial. Diluir con 75 ml de agua, calentar a ebullición, agregar 50,0 ml de dicromato de potasio 0,1 N (SV) y calentar a ebullición durante 2 a 3 minutos. Enfriar, transferir a un matraz aforado de 200 ml con la ayuda de agua, completar a volumen con agua, mezclar y dejar sedimentar. Retirar 100,0 ml del líquido transparente, y transferir a un erlenmeyer con tapón de vidrio. Agregar 10 ml de ácido sulfúrico diluido y 1 g de ioduro de potasio, insertar el tapón, mezclar suavemente y dejar reposar durante 10 minutos. Titular el iodo liberado, que representa el exceso de dicromato, con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Cada mililitro de dicromato de potasio 0,1 N equivale a 7,440 mg de PbO. Contiene no menos de 98 %.

Insolubilidad en ácido acético - Disolver 2 g en 30 ml de ácido acético glacial diluido (1 en 2), calentar a ebullición suavemente durante 5 minutos, filtrar, lavar el residuo con ácido acético diluido y secar a 105 °C durante 2 horas: el residuo no pesa más de 10 mg (0,5 %).

Sustancias no precipitadas por sulfuro de hidrógeno - Precipitar completamente el plomo del

filtrado obtenido en el ensayo de *Insolubilidad en ácido acético* pasando sulfuro de hidrógeno a través del filtrado, filtrar y lavar el precipitado con 20 ml de agua. A la mitad del filtrado y lavados mezclados agregar 5 gotas de ácido sulfúrico, evaporar hasta sequedad y someter a ignición a 800 ± 25 °C durante 15 minutos: el residuo no pesa más de 5 mg (0,5 %).

Sustancias volátiles - Pesar exactamente 5 g y calentar fuertemente en un crisol de porcelana cubierto: no pierde más de 2,0 % de su peso.

Morfolina - (*Tetrahydro-1,4-oxazina*) - C₄H₉NO - (PM: 87,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Mucilago de almidón - Triturar 0,5 g de almidón o almidón soluble en 5 ml de agua y agregar con agitación continua a suficiente agua para producir aproximadamente 100 ml. Someter a ebullición durante algunos minutos, enfriar y filtrar. Preparar en el momento de su uso.

Produce coloración azul con iodo libre en presencia de ioduro soluble.

N

Naftaleno - $C_{10}H_8$ - (PM: 128,2) - Placas prismáticas monoclinicas o escamas blancas o polvo. Una solución en éter de petróleo presenta una fluorescencia púrpura bajo la luz de una lámpara de arco de mercurio. Insoluble en agua; muy soluble en éter y en aceites fijos y volátiles; fácilmente soluble en benceno, disulfuro de carbono, tetracloruro de carbono, cloroformo, aceite de oliva y tolueno; soluble en alcohol y metanol. Sublima a temperaturas por encima de la temperatura de fusión.

Intervalo de fusión <260> - Entre 80 y 81 °C.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 217 y 219 °C.

1,3-Naftalenodiol - (*Naftoresorcinol*) - (PM: 160,2) - $C_{10}H_6(OH)_2$ - Cristales o polvo blanco grisáceo a tostado. Fácilmente soluble en metanol; moderadamente soluble en agua, alcohol y éter.

Intervalo de fusión <260> - Entre 122 y 127 °C.

Solubilidad en metanol - Disolver 500 mg en 50 ml de metanol: la solución es transparente y completa.

2,7-Naftalenodiol - (*2,7-Dihidroxinaftaleno*) - $C_{10}H_8O_2$ - (PM: 160,2) - Sólido cristalino o polvo casi blanco a amarillo. Se disuelve en acetona.

Intervalo de fusión <260> - Entre 187 y 191 °C.

Naftilamina - (*1-Naftilamina*) - $C_{10}H_9N$ - (PM: 143,2) - Polvo cristalino blanco que toma color rosa por exposición a la luz y al aire. Poco soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol y éter. Conservar en envase inactivo.

Punto de fusión - Aproximadamente a 51 °C.

Naftiletildiamina, clorhidrato de - (*Dihidrocloreuro de N-(1-naftil)etilendiamina*) - $C_{12}H_{16}Cl_2N_2$ - (PM: 259,2) - Polvo blanco o blanco amarillento; soluble en agua, poco soluble en alcohol.

1-Naftol - (*Alfanaftol*) - $C_{10}H_7OH$ - (PM: 144,2) - Cristales o polvo cristalino algo rosado o incoloro, de olor característico. Insoluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Intervalo de fusión <260> - Entre 95 y 97 °C.

Solubilidad - 1 g se disuelve en alcohol dando una solución transparente e incolora o casi incolora.

Acidez - Agitar ocasionalmente 1 g con 50 ml de agua durante 15 minutos y filtrar: el filtrado es neutro al tornasol.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,05 %.

2-Naftol - (*Betanaftol*) - $C_{10}H_7OH$ - (PM: 144,2) - Laminillas blancas o polvo cristalino con un olor débil característico. Se decolora por exposición a la luz. Poco soluble en agua; soluble en alcohol, éter, cloroformo y en soluciones de hidróxidos alcalinos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 121 y 123 °C.

Solubilidad en alcohol - Una solución de 1 g en 10 ml de alcohol es completa e incolora o prácticamente incolora.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,05 %.

Acidez - Agitar ocasionalmente 1 g con 50 ml de agua durante 15 minutos y filtrar: el filtrado es neutro al tornasol.

1-Naftol - Calentar a ebullición 100 mg con 10 ml de agua hasta disolución, enfriar y filtrar. Agregar al filtrado 0,3 ml de hidróxido de sodio 1 N y 0,3 ml de yodo 0,1 N: no se produce color violeta.

Sustancias insolubles en amoníaco (naftaleno, etc.) - Agitar 500 mg con 30 ml de amoníaco (SR): el 2-naftol se disuelve completamente y la solución presenta un color no más oscuro que un amarillo pálido.

1-Naftolbencéina - (*α-Naftolbencéina; Fenil bis(4-hidroxinaftil)metanol*) - $C_{27}H_{20}O_3$ - (PM: 392,5) - Polvo rojo pardo o cristales pardo negro, soluble en ácido acético glacial y alcohol, prácticamente insoluble en agua.

p-Naftolbencéina - $C_{27}H_{18}O_2$ - (PM: 374,4) - Polvo marrón rojizo. Emplear un reactivo de grado apropiado.

Naftol disulfonato de potasio - (*2-Naftol-6,8-dipotasio disulfonato*) - $C_{10}H_6K_2O_7S_2$ - (PM: 380,4) - Emplear uno de grado apropiado.

β-Naftoquinona-4-sulfonato sódico - $C_{10}H_5NaO_5S$ - (PM: 260,2) - Cristales o polvo cristalino amarillo a amarillo anaranjado. Soluble en agua; insoluble en alcohol.

Pérdida por secado <680> - Secar al vacío aproximadamente a 50 °C: no pierde más de 2,0 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g de muestra seca con 3 ml de ácido sulfúrico: el residuo pesa entre 265 y 280 mg (entre 26,5 y 28,0 %).

Naftoresorcinol - (*1, 3-Dihidrosorcinol*) - $C_{10}H_8O_2$ - (PM: 160,2) - Emplear uno de grado apropiado.

Naranja G - (*sal sódica del ácido betanaftol azobenceno disulfónico*) - (PM: 452,4) -

$C_6H_5N:NC_{10}H_4(OH)(SO_3Na)_2-2,6,8$ - Polvo de color anaranjado a rojo ladrillo o cristales de color rojo oscuro. Fácilmente soluble en agua, proporcionando una solución amarillo anaranjada; poco soluble en alcohol; insoluble en éter y cloroformo. El agregado de ácido tánico (SR) a una solución 1 en 500 no produce precipitación (*color ácido*). El agregado de ácido clorhídrico a una mezcla de 500 mg de polvo de cinc y 10 ml de una solución 1 en 500 produce decoloración. Cuando se filtra, el filtrado incoloro, por exposición al aire, no recupera su color original (*presencia de grupo azo*). Cuando se calienta, el Naranja G no produce deflagración (*distinción con colorantes nitro*). El agregado de cloruro de calcio o bario (SR) a una solución concentrada de Naranja G produce un precipitado cristalino coloreado. El agregado de ácido clorhídrico a una solución 1 en 500 no produce cambio; el agregado de hidróxido de sodio (SR) a una solución similar produce un color entre rojo amarillento y rojo profundo pero ningún precipitado. El Naranja G se disuelve en ácido sulfúrico con un color anaranjado a rojo amarillento. No se produce ningún cambio en el color al diluir esta solución con agua.

Nicotinamida adenina dinucleótido - Emplear uno de grado apropiado.

Aptitud - Cuando se emplea para el ensayo de acetaldehído, determinar si la pendiente que se obtiene del gráfico de absorbancia en función de la concentración es apropiada empleando acetaldehído reactivo, la absorbancia del blanco del reactivo no debe ser mayor de 0,01.

Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato-adenosina-5'-trifosfato, mezcla de - Emplear uno de grado apropiado.

Aptitud - Cuando se emplea en la valoración de lactulosa, determinar si la pendiente que se obtiene del gráfico de absorbancia en función de la concentración es apropiada, empleando *Lactulosa SR-FA*, la absorbancia del blanco del reactivo no debe ser mayor de 0,020. El reactivo generalmente disponible contiene 64 mg de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato y 160 mg de adenosina-5'-trifosfato por vial. La mezcla está estabilizada y posee reguladores de pH. Para uso en la valoración de lactulosa se diluye con agua a 100 ml.

Ninhidrina - (*Tricetohidrindeno monohidrato*) - $C_9H_4O_3 \cdot H_2O$ - (PM: 178,2) - Cristales blancos a blanco pardusco o polvo cristalino. Soluble en agua y alcohol; poco soluble en éter y cloroformo. Cuando se calienta por encima de 100 °C, se torna rojo. Almacenar en envase inactivo.

Intervalo de fusión <260> - Entre 240 y 245 °C, con descomposición, en un baño precalentado a 220°C.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 100 mg.

Sensibilidad - Preparar una solución de 10 mg de ácido aminoacético en 25 ml de agua. A 1 ml de esta solución agregar una solución de 50 mg de acetato de sodio en 2 ml de agua luego agregar 0,2 ml de una solución de 5 mg de ninhidrina en 1 ml de agua y calentar a ebullición la mezcla durante 1 a 2 minutos: se produce un color violeta que se vuelve intenso luego de unos pocos minutos en reposo.

Níquel - Ni - (PA: 58,69) - Emplear uno de grado apropiado.

Nitrato cérico amónico - $Ce(NO_3)_4 \cdot 2NH_4NO_3$ - (PM: 548,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de amonio - NH_4NO_3 - (PM: 80,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de bario - $Ba(NO_3)_2$ - (PM: 261,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de cadmio - $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ - (PM: 308,5) - Cristales incoloros, higroscópicos. Muy soluble en agua; soluble en alcohol.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 20 g (0,005 %).

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,01 mg de Cl (0,001 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método II*. Disolver 12 g en 25 ml de ácido clorhídrico y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Agregar 15 ml de ácido clorhídrico y nuevamente evaporar hasta sequedad. Disolver el residuo en 100 ml de agua, filtrar y agregar 1 ml de ácido clorhídrico: el residuo pesa no más de 1,0 mg más que el residuo obtenido con un blanco (0,003 %).

Cobre - Disolver 500 mg en 10 ml de agua, agregar 10 ml de *Solución de citrato de amonio* (ver 600. *Límite de plomo*) y ajustar la reacción a pH aproximadamente 9 mediante el agregado de hidróxido de amonio 1 N (aproximadamente 30 ml). Agregar 1 ml de solución de dietilditiocarbamato de sodio (1 en 1000) y mezclar. Agregar 5 ml de alcohol amílico, agitar durante aproximadamente 1 minuto y dejar que las fases se separen: cualquier color amarillo en la fase de alcohol amílico no es más oscuro que el de un blanco al cual se ha agregado 0,01 mg de Cu (0,002%).

Hierro - Disolver 1 g en 15 ml de agua, agregar 2 ml de ácido clorhídrico y calentar a ebullición durante 2 minutos. Enfriar, agregar aproximadamente 30 mg de persulfato de amonio y 15 ml de

una solución de tiocianato de potasio en alcohol butílico (preparada disolviendo 10 g de tiocianato de potasio en 10 ml de agua, calentando la solución a aproximadamente 30 °C, diluyendo con alcohol butílico a 100 ml y agitando hasta clarificar). Agitar vigorosamente durante 30 segundos y dejar que las fases se separen: cualquier color rojo en la fase alcohólica clara no es más oscuro que el de un blanco al cual se ha agregado 0,01 mg de Fe (0,001 %).

Plomo - Disolver 1,0 g en 10 ml de agua, agregar 0,2 ml de ácido acético glacial y filtrar si fuera necesario. A 7 ml de agua, agregar 0,2 ml de ácido acético glacial y 3 ml de *Solución de plomo estándar* (ver 600. *Límite de plomo*) y mezclar para obtener un blanco. Luego agregar a cada solución 1,0 ml de solución de cromato de potasio (1 en 10) y mezclar: luego de 5 minutos, la solución muestra no es más turbia que el blanco (0,003 %).

Sustancias no precipitadas por sulfuro de hidrógeno - Disolver 2 g en 145 ml de agua, agregar 5 ml de ácido sulfúrico (1 en 10), calentar a ebullición y pasar una corriente rápida de sulfuro de hidrógeno a través de la solución a medida que ésta se enfría. Filtrar y, a 75 ml del filtrado transparente agregar 0,25 ml de ácido sulfúrico. Evaporar hasta sequedad y someter a ignición suavemente: el residuo no pesa más de 1 mg (0,1 %).

Nitrato de calcio - $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 236,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de circonilo - Ver Circonilo, nitrato de.

Nitrato de cobalto - $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 291,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de litio - LiNO_3 - (PM: 69,0) - Cristales incoloros. Emplear uno de grado apropiado cuyo rótulo declare que no contiene menos de 97,0 %.

Nitrato de magnesio - $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 256,4) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de plata - AgNO_3 - (PM: 169,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de plomo - $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ - (PM: 331,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de potasio - KNO_3 - (PM: 101,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de sodio - NaNO_3 - (PM: 85,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de tetrametilamonio - $(\text{CH}_3)_4\text{NNO}_3$ - (PM: 136,2) - Cristales blancos. Fácilmente soluble en agua.

Nitrato de torio - $\text{Th}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 552,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato férrico - $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 404,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato mercúrico - $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ - (PM: 342,6) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato mercurioso - HgNO_3 - (PM: 280,6) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrato de torio - $\text{Th}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 552,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrito de potasio - KNO_2 - (PM: 85,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrito de sodio - NaNO_2 - (PM: 69,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

4'-Nitroacetofenona - (*p'*-Nitroacetofenona) - $\text{C}_8\text{H}_7\text{NO}_3$ - (PM: 165,2) - Cristales amarillos.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada de la muestra en éter (aproximadamente 0,5 µl) en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de conductividad térmica y una columna de acero inoxidable 1,8 m × 4 mm con fase estacionaria constituida por aceite de dimetilpolisiloxano al 10 % sobre un soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 200 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 170 °C y se programa un ascenso de 3 °C por minuto hasta alcanzar 220 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de 4'-nitroacetofenona no es menor de 97 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 78 y 80 °C.

o-Nitroanilina - $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2$ - (PM: 138,1) - Cristales amarillo anaranjados. Poco soluble en agua fría; soluble en agua caliente; fácilmente soluble en alcohol y cloroformo. Forma sales solubles en agua con ácidos minerales.

Intervalo de fusión <260> - Entre 71 y 72 °C.

p-Nitroanilina - $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2$ - (PM: 138,1) - Polvo amarillo brillante, cristalino. Insoluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Intervalo de fusión <260> - Entre 146 y 148 °C.

Solubilidad - Porciones separadas de 1 g se disuelven en 30 ml de alcohol y en 40 ml de éter, respectivamente, dando soluciones transparentes o prácticamente transparentes.

Residuo de ignición (ensayo para reactivos) - No más de 0,2 %.

Nitrobenceno - $C_6H_5NO_2$ - (PM: 123,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

4-(p-Nitrobencil) piridina - $C_{12}H_{10}N_2O_2$ - (PM: 214,2) - Cristales amarillos. Soluble en acetona.

Materia insoluble - Disolver 1 g en 10 ml de acetona: la solución es transparente y completa.

Intervalo de fusión <260> - Entre 71 y 74 °C.

Nitrobanzaldehído - (*2-Nitrobenzaldehído*) - $C_7H_5NO_3$ - (PM: 151,1) - Agujas amarillas; fácilmente soluble en alcohol, soluble en éter, poco soluble en agua.

Punto de fusión <260> - Aprox. 42 °C.

5-Nitro-1,10-fenantrolina - $C_{12}H_7N_3O_2$ - (PM: 225,2) - Polvo blanco, inodoro. Soluble en agua.

Intervalo de fusión <260> - Entre 198 y 200 °C.

Aptitud como indicador redox - Disolver 25 mg en un volumen mínimo de ácido sulfúrico diluido, agregar 10 mg de sulfato ferroso y diluir con agua a 100 ml: la solución es color rojo profundo y presenta un máximo de absorción a 510 nm. A 1,0 ml de la solución agregar 1,0 ml de sulfato cérico 0,01 M: desaparece el color rojo.

Nitroferriicianuro de sodio - (*Nitroprusiato de sodio*) - $Na_2Fe(NO)(CN)_5 \cdot 2H_2O$ - (PM: 298,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Nitrometano - CH_3NO_2 - (PM: 61,0) - Líquido aceitoso. Soluble en agua, en alcohol, en éter y en dimetilformamida. Densidad relativa: aproximadamente 1,132. Las soluciones en agua son ácidas al tornasol.

Índice de refracción <230> - Aproximadamente 1,380, a 22 °C.

Intervalo de ebullición - Entre 101 y 103 °C.

Residuo en evaporación - Inapreciable, determinado sobre 50 ml.

Nitroprusiato de sodio - (*Pentosiano-nitrosilferrato (III) de disodio dihidratado*) - $Na[Fe(CN)_5NO] \cdot H_2O$ - (PM: 298,0) - Polvo o cristales paros rojizos. Fácilmente soluble en agua; poco soluble en alcohol.

1-Nitroso-2-naftol - $C_{10}H_7NO_2$ - (PM: 173,2) - Polvo marrón a marrón amarillento. Insoluble en

agua; soluble en alcohol, éter, tetracloruro de carbono y ácido acético.

Valoración - Transferir aproximadamente 250 mg, previamente secados sobre gel de sílice hasta peso constante y exactamente pesados, a un erlenmeyer con tapón de vidrio y disolver en 10 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 10). Enfriar la solución en un baño de hielo, agregar ácido sulfúrico diluido (1 en 6) hasta que se forme un precipitado leve, permanente y la solución sea algo ácida. Agregar 3 g de ioduro de potasio, agitar hasta disolver, agregar 20 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 6), de inmediato insertar el tapón en el erlenmeyer y dejar reposar en la oscuridad durante 2 horas. Titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 8,66 mg de $C_{10}H_7NO_2$. Contiene no menos de 95,0 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 109 y 111 °C.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,2 %.

Nonadecano - $C_{19}H_{40}$ - (PM: 268,5) - Sólido blanco.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de conductividad térmica y una columna de acero inoxidable de 1,8 m × 3 mm con una fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano al 5 % sobre un soporte constituido por tierra silíceas para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido y alcali. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 330 y 300 °C, respectivamente. La temperatura del horno se mantiene inicialmente en 190 °C y se programa un aumento gradual hasta alcanzar 250 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de nonadecano no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 31,5 y 33,5 °C.

DL-Norleucina - (*Ácido DL-2-aminohexanoico*) - $C_6H_{13}NO_2$ - (PM: 131,2) - Cristales brillantes. Soluble en soluciones ácidas; moderadamente soluble en agua y alcohol.

O

Octadecilsilano - Este reactivo se forma *in situ* mediante reacción del soporte de columnas con un agente silanizante apropiado, como por ej., el octadecil triclorosilano.

Octanofenona - $C_{14}H_{20}O$ - (PM: 204,3) - Líquido incoloro.

Valoración -

Fase móvil - Acetonitrilo y agua (7:3), filtrado y desgacificado.

Procedimiento - Inyectar aproximadamente 20 μ l en un cromatógrafo de líquidos apropiado (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector ultravioleta a 254 nm y una columna de 15,0 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecil silano, químicamente unido a partículas de sílice porosa o micropartículas cerámicas, de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal es de aproximadamente 2 ml por minuto. El área del pico $C_{14}H_{20}O$ no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <260> - 1,5043, a 20 °C.

1-Octanosulfonato de sodio - $C_8H_{17}NaO_3S$ - (PM: 216,3) - Emplear uno de grado apropiado.

(p-ter-Octilfenoxi)nonaetoxietanol - (*Polietilenglicol fenil nonil éter*) - $C_{34}H_{62}O_{11}$ - (PM: 646,9) - Emplear uno de grado apropiado.

(p-ter-Octilfenoxi)polietoxietanol - Emplear uno de grado apropiado.

Octil sulfato, sal sódica - $C_8H_{17}O_4SNa$ - (PM: 232,3) - Polvo blanco.

Solubilidad - 2 g se disuelven en 100 ml de agua.

Intervalo de fusión <260> - Entre 195 y 197 °C, con descomposición.

Octoxinol 9 - Ver Agente humectante no iónico.

Octoxinol 10 - (α -[4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenil]-*w*-hidroxipropil(oxi)etileno)) - $C_{34}H_{62}O_{11}$ - (PM: 647,0) - Líquido transparente, amarillo pálido, viscoso, miscible con acetona, agua y alcohol. Soluble en tolueno. Conservar en envase hermético.

Oleamida - ((*z*)-Octadec-9-enamida) - $C_{18}H_{35}NO$ (PM: 281,5) - Polvo o granulado blanco o amarillento. Prácticamente insoluble en agua; muy soluble en cloruro de metileno; soluble en etanol.

Punto de fusión - Aproximadamente a 80 °C.

Oleato de metilo - $C_{19}H_{36}O_2$ - (PM: 296,5) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar recubierta con una capa 1 μ m de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 230 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de $C_{19}H_{36}O_2$ no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - 1,452, a 20 °C.

Orcinol - (*5-Metilresorcinol*) - $C_7H_8O_2 \cdot H_2O$ - (PM: 142,2) - Cristales de color blanco a canela brillante.

Valoración - Transferir aproximadamente 60 mg, exactamente pesados, a un matraz aforado de 100 ml, disolver en metanol, completar a volumen con metanol y mezclar. Transferir 5,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con metanol y mezclar. Determinar la absorbancia de la solución en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 273 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando metanol como blanco. A partir de la absorbancia observada, calcular la absortividad (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*): la absortividad no es menor de 13,2, correspondiente a no menos de 98 % de $C_7H_8O_2 \cdot H_2O$.

Intervalo de fusión <260> - Entre 58 y 61 °C.

Ortofenantrolina - Ver 1,10-Fenantrolina.

Oxalato de amonio - $(NH_4)_2C_2O_4 \cdot H_2O$ - (PM: 142,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Oxalato de sodio - $Na_2C_2O_4$ - (PM: 134,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

3,3'-Oxidipropionitrilo - $O(CH_2CH_2CN)_2$ - (PM: 124,1) - Líquido transparente, incoloro a algo amarillo. Índice de refracción: aproximadamente 1,446, a 20 °C.

Intervalo de ebullición - Entre 174 y 176 °C, a 10 mm Hg.

Óxido de aluminio lavado con ácido - (*Alúmina especialmente preparada para emplear en análisis cromatográfico*) - Polvo blanco o gránulos finos prácticamente blancos. Muy higroscópico. Almacenar en envases de cierre perfecto.

pH - El pH de una pasta espesa bien mezclada de 5 g en 150 ml de agua libre de amoníaco, luego

de 10 minutos en reposo, se encuentra entre 3,5 y 4,5.

Pérdida por ignición - Pesar exactamente 1 g y calcinar, preferentemente en una mufla, entre 800 y 825 °C, hasta peso constante: no pierde más de 5,0 % de su peso.

Silice - Fundir 500 mg con 10 g de bisulfato de potasio durante 1 hora en un crisol de platino, enfriar y disolver en agua caliente: no se obtiene más que una cantidad pequeña de materia insoluble.

Aptitud para adsorción cromatográfica - Disolver 50 mg de *o*-nitroanilina en benceno para obtener 50,0 ml. Diluir 10 ml de la solución resultante con benceno a 100,0 ml y mezclar (*Solución A*).

De inmediato, pesar rápido aproximadamente 2 g ($\pm 0,005$) de muestra en un pesafiltro y transferirlo a un tubo de ensayo seco, con tapón de vidrio. Agregar 20,0 ml de *Solución A*, tapar, agitar vigorosamente durante 3 minutos y dejar sedimentar. Transferir 10 ml de la solución sobrenadante transparente a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con benceno y mezclar (*Solución B*). Determinar las absorbancias de las *Soluciones A* y *B*, a 395 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando benceno como blanco. Calcular la cantidad absorbida, en mg por g de muestra, por la fórmula siguiente:

$$[2(1 - A_B/A_A)]/P$$

en la cual, A_A y A_B son las absorbancias de las *Soluciones A* y *B*, respectivamente y P es el peso, en g, de óxido de aluminio. Cada gramo de óxido de aluminio absorbe no menos de 0,3 mg de *o*-nitroanilina.

Óxido de cinc - ZnO - (PM: 81,4) - Polvo amorfo, ligero y blanco o débilmente blanco-amarillento, sin aglomerados. Prácticamente insoluble en agua y alcohol. Se disuelve en ácidos minerales diluidos.

Óxido de deuterio - (*Agua deuterada*) - D₂O - (PM: 20,03) - Emplear uno de grado apropiado que tiene una pureza isotópica mínima de 99,8 % para el átomo de deuterio.

Óxido de holmio - Ho₂O₃ - (PM: 377,9) - Polvo amarillento. Prácticamente insoluble en agua.

Óxido de magnesio - MgO - (PM: 40,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Óxido de magnesio para cromatografía - Emplear uno de grado apropiado.

Óxido de mesitilo - C₆H₁₀O - (PM: 98,1) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*)

equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μ m de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector aproximadamente a 150 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene en 50 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 200 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico C₆H₁₀O no es menor de 98 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,443 y 1,447, a 20 °C.

Óxido de plata - Ag₂O - (PM: 231,7) - Polvo pesado negro pardusco, inodoro. Se descompone lentamente por exposición a la luz. Absorbe dióxido de carbono cuando se humedece. Prácticamente insoluble en agua; fácilmente soluble en ácido nítrico diluido y amoníaco; insoluble en alcohol. Almacenar en envases bien cerrados; no exponer a vapores de amoníaco ni a sustancias fácilmente oxidables.

Valoración - Disolver aproximadamente 500 mg, previamente secados a 120 °C durante 3 horas y exactamente pesados, en una mezcla de 20 ml de agua y 5 ml de ácido nítrico. Diluir con agua a 100 ml, agregar 2 ml de sulfato férrico amónico (SR) y titular con tiocianato de amonio 0,1 N (SV) hasta un color pardo rojizo permanente. Cada mililitro de tiocianato de amonio 0,1 N equivale a 11,59 mg de Ag₂O. No contiene menos de 99,7 % de Ag₂O.

Pérdida por secado - Secar a 120 °C durante 3 horas: no pierde más de 0,25 % de su peso.

Nitrato - A 500 mg, agregar 30 mg de carbonato de sodio y 2 ml de ácido fenoldisulfónico (SR), mezclar y calentar en un baño de vapor durante 15 minutos. Enfriar, agregar con precaución 20 ml de agua, alcalinizar con amoníaco (SR) y diluir con agua a 30 ml: ningún color que produzca la solución muestra es más intenso que el producido por un control que contenga 0,01 mg de NO₃ (0,002 %).

Sustancias insolubles en ácido nítrico - Disolver 5 g en una mezcla de 5 ml de ácido nítrico y 10 ml de agua, diluir con agua a aproximadamente 65 ml y filtrar el residuo no disuelto en un crisol filtrante previamente pesado (retener el filtrado para el ensayo de *Sustancias no precipitadas por ácido clorhídrico*). Lavar el crisol con agua hasta que el último lavado no presente opalescencia con 1 gota de ácido clorhídrico y secar a 105 °C hasta peso constante: el residuo no pesa más de 1 mg (0,02 %).

Sustancias no precipitadas por ácido clorhídrico - Diluir el filtrado obtenido en el ensayo de *Sustancias insolubles en ácido nítrico* con agua a 250 ml, calentar a ebullición y agregar, ácido

clorhídrico gota a gota, suficiente para precipitar toda la plata (aproximadamente 5 ml), evitando cualquier exceso. Enfriar, diluir con agua a 300 ml y dejar reposar durante toda la noche. Filtrar, evaporar 200 ml del filtrado en una cápsula de porcelana, previamente pesada, hasta sequedad y someter a ignición: el residuo no pesa más de 1,7 mg (0,05 %).

Alcalinidad - Calentar 2 g con 40 ml de agua en un baño de vapor durante 15 minutos, enfriar y diluir con agua a 50 ml. Filtrar, descartando los primeros 10 ml del filtrado. Agregar a 25 ml del

filtrado posterior, 2 gotas de fenolftaleína (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,02 N (SV) hasta la desaparición de cualquier color rosado: no se consume más de 0,20 ml (0,016 % como NaOH).

Óxido de trioctilfosfina - $C_{24}H_{51}PO$ - (PM: 386,6) Polvo blanco, cristalino. Insoluble en agua; soluble en solventes orgánicos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 54 y 56 °C.

Óxido mercúrico amarillo - HgO - (PM: 216,6) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

P

Paladio catalizador - Emplear uno de grado apropiado.

Palmitato de retinilo - $C_{36}H_{60}O_2$ - (PM: 524,9) - Líquido amarillo.

Valoración -

Fase móvil - Acetonitrilo y tetrahidrofurano (55:15).

Procedimiento - Inyectar aproximadamente 10 μ l en un cromatógrafo de líquidos apropiado (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector ultravioleta a 320 nm y una columna de 15 cm \times 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice porosa o micropartículas cerámicas, de 3 a 10 μ m de diámetro. El caudal es de aproximadamente 1 ml por minuto. El área del pico de $C_{36}H_{60}O_2$ no es menor de 93 % del área total.

Pantotenato de calcio, dextrógiro - Emplear *Pantotenato de calcio*.

Papel de filtro cuantitativo - Para el Papel de bromuro mercúrico empleado para el ensayo de arsénico, emplear papel de filtro lavado con ácido, de bajo contenido de cenizas y calidad apropiada.

Papel inodoro absorbente - Ver Papel de filtro cuantitativo.

Paraformaldehído - $(CH_2O)_n$ - Polvo blanco, fino, de olor característico a formaldehído.

Valoración - Transferir aproximadamente 1 g, exactamente pesado, a un erlenmeyer de 250 ml que contiene 50,0 ml de hidróxido de sodio 1 N (SV) y mezclar agitando por rotación. De inmediato y lentamente, agregar 50 ml de peróxido de hidrógeno (SR), previamente neutralizado con azul de bromotimol, a través de un embudo. Luego de que la reacción se modera, lavar el embudo y la pared interna del erlenmeyer con agua, dejar la solución en reposo durante 30 minutos, agregar azul de bromotimol (SR) y titular el exceso de álcali con ácido sulfúrico 1 N (SV). Cada mililitro de hidróxido de sodio 1 N equivale a 30,03 mg de HCHO. Contiene no menos de 95 %.

Residuo de ignición - No más de 0,1 %.

Solubilidad en amoníaco - Disolver 5 g en 50 ml de amoníaco (SR): la solución es prácticamente transparente e incolora.

Reacción - Agitar 1 g con 20 ml de agua durante aproximadamente 1 minuto y filtrar: el filtrado es neutro al tornasol.

Penicilinasas - Ver Beta-lactamasas.

Pentacianoamino ferrato trisódico - (PM: 271,9) - $Na_3[Fe(CN)_5NH_3]$ - Polvo amarillo a marrón. Soluble en agua.

Solubilidad - Disolver 500 mg en 50 ml de agua y dejar reposar durante 1 hora: la solución es transparente y libre de materia extraña.

Sensibilidad -

Solución estándar de 1,1-dimetilhidracina - Transferir 500 ml de agua a un matraz aforado de 1 litro y agregar desde una bureta 1,27 ml de 1,1-dimetilhidracina anhidra. Completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 10 ml de esta solución en un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua. Cada mililitro de esta solución equivale a 100 μ g de 1,1-dimetilhidracina.

Solución reguladora - Transferir 4,8 g de ácido cítrico monohidratado a un matraz aforado de 1 litro, disolver en agua, agregar 14,6 g de fosfato de sodio, agitar por rotación hasta disolver y completar a volumen con agua.

Preparación muestra - Disolver 100 mg de Pentacianoamino ferrato trisódico en 100 ml de agua.

Procedimiento - A cada uno de cinco matraces aforados de 25 ml transferir 0; 0,25; 0,50; 1,0 y 1,5 ml, respectivamente, de *Solución estándar de 1,1-dimetilhidracina*. Agregar a cada matraz 15 ml de *Solución reguladora* y agitar por rotación para mezclar. Transferir a cada matraz, 2 ml de *Preparación muestra*, mezclar, completar a volumen con *Solución reguladora* y dejar en reposo durante 1 hora. Determinar las absorbancias de las soluciones resultantes, en celdas de 1 cm, a 500 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando la solución que no contenga *Solución estándar de 1,1-dimetilhidracina* como blanco. Graficar absorbancia en función de la concentración del estándar y trazar la curva que mejor ajuste. El gráfico es lineal y la absorbancia de la solución de 150 μ g no debe ser menor de 0,65.

Pentacloruro de antimonio - $SbCl_5$ - (PM: 299,0) Líquido transparente, amarillo rojizo, aceitoso, higroscópico, cáustico. Emite gases al aire húmedo y solidifica mediante absorción de una molécula de agua. Se descompone con agua. Soluble en ácido clorhídrico diluido y cloroformo. Hierve aproximadamente a 92 °C, a una presión de 30 mm Hg y tiene una densidad relativa de aproximadamente 2,34, a 25°C.

Precaución - El Pentacloruro de antimonio causa quemaduras severas y el vapor es peligroso.

Valoración - Pesar exactamente un erlenmeyer con tapón de vidrio de 125 ml, transferir de inme-

diato aproximadamente 0,3 ml de muestra y pesar nuevamente. Disolver con 20 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 5) y agregar 10 ml de solución de ioduro de potasio (1 en 10) y 1 ml de disulfuro de carbono. Titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV). El color pardo gradualmente desaparecerá de la solución y las últimas trazas de iodo libre se recogerán en el disulfuro de carbono, dando un color rosado. Cuando desaparece este color rosado se ha llegado el punto final. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 14,95 mg de SbCl_5 . Contiene no menos de 99,0 % de SbCl_5 .

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método II*. Disolver 4,3 ml (10 g) en un volumen mínimo de ácido clorhídrico, diluir con agua a 150 ml, neutralizar con hidróxido de amonio y filtrar. Agregar al filtrado 2 ml de ácido clorhídrico: la solución con 10 ml de cloruro de bario (SR) produce no más de 1,3 mg de residuo, corregido por un ensayo en blanco (0,005%).

Arsénico - Agregar 10 ml de una solución recientemente preparada de 20 g de cloruro estañoso en 30 ml de ácido clorhídrico, a 100 mg de muestra disuelta en 5 ml de ácido clorhídrico. Mezclar, transferir a un tubo de Nessler y dejar reposar durante 30 minutos. Cualquier color en la solución de la muestra no debe ser más oscuro que el de un control que contiene 0,02 mg de arsénico (As), tratado de la misma manera que la muestra, cuando se observa desde arriba sobre una superficie blanca (0,02 % de As).

Hierro <580> - Al residuo del ensayo de *Sustancias no precipitadas por sulfuro de hidrógeno* agregar 2 ml de ácido clorhídrico y 5 gotas de ácido nítrico y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Tomar el residuo en 2 ml de ácido clorhídrico y diluir con agua a 47 ml: la solución no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,001 %).

Otros metales pesados (como Pb) - Disolver el precipitado en el papel de filtro, del ensayo *Sustancias no precipitadas por sulfuro de hidrógeno*, con 75 ml de una solución que contiene 6 g de sulfuro de sodio y 4 g de hidróxido de sodio disueltos en agua y diluidos con agua a 100 ml. Recolectar el filtrado en el erlenmeyer original que contiene el resto del precipitado de sulfuro. Calentar la solución para disolver los sulfuros solubles y dejar que sedimenten los sulfuros insolubles. Filtrar, lavar con sulfuro de hidrógeno (SR) y disolver el precipitado que permanece en el papel de filtro con 10 ml de ácido clorhídrico diluido caliente. Diluir el filtrado con agua a 50 ml. Neutralizar una porción de 25 ml de esta solución con hidróxido de sodio 1 N y agregar 1 ml de ácido acético 1 N y 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR). Cualquier color pardo no debe

exceder el producido por 0,05 mg de plomo iónico en un volumen igual de solución que contiene 1 ml de ácido acético 1 N y 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR) (0,005 %).

Sustancias no precipitadas por sulfuro de hidrógeno (como SO_4) - Disolver 0,90 ml (2 g) en 5 ml de ácido clorhídrico y diluir con 95 ml de agua. Precipitar el antimonio completamente con sulfuro de hidrógeno, dejar que el precipitado sedimente y filtrar, con cuidado de no transferir gran parte del precipitado al papel de filtro. [NOTA: retener el precipitado]. A 50 ml del filtrado, agregar 0,5 ml de ácido sulfúrico, evaporar en un crisol de porcelana, previamente pesado, hasta sequedad e incinerar a 800 ± 25 °C durante 15 minutos. [NOTA: retener el residuo.] El peso del residuo de ignición no debe ser más de 0,0010 g mayor que el peso obtenido con un blanco (0,10 %).

Pentadecano - $\text{C}_{15}\text{H}_{32}$ - (PM: 212,4) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 280 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 180 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico $\text{C}_{15}\text{H}_{32}$ no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,430 y 1,434, a 20 °C.

Pentano - (*n*-Pentano) - C_5H_{12} - (PM: 72,2) - Líquido transparente, incoloro, inflamable. Poco soluble en agua. Miscible con alcohol, éter y con varios solventes orgánicos. Densidad relativa: aproximadamente 0,62.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 34 y 36 °C.

1-Pentanosulfonato de sodio - (PM: 192,2) - $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NaO}_3\text{S} \cdot \text{H}_2\text{O}$ - Sólido blanco, cristalino. Soluble en agua.

Solubilidad - 1 g disuelto en 25 ml de agua, produce una solución transparente y completa.

Agua <120> - **Titulación volumétrica directa**. No más de 2,0 %.

Pentóxido de fósforo - (*Anhidrido fosfórico*) - P_2O_5 - (PM: 141,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Pentóxido de vanadio - V_2O_5 - (PM: 181,9) - Polvo fino amarillo a amarillo anaranjado. Poco

soluble en agua; soluble en ácidos concentrados y en álcalis; insoluble en alcohol.

Valoración - Transferir aproximadamente 400 mg, exactamente pesados, a un erlenmeyer de 500 ml y agregar 150 ml de agua y 30 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 2). Calentar a ebullición la solución sobre una placa calefactora durante 5 minutos, agregar 50 ml de agua y continuar calentando a ebullición hasta obtener una solución amarilla. Transferir la placa calefactora y el erlenmeyer a una campana extractora bien ventilada y burbujear dióxido de azufre a través de la solución durante 10 minutos o hasta que la solución sea de color azul claro brillante. Lavar el tubo de salida del gas con unos ml de agua luego burbujear dióxido de carbono a través de la solución durante 30 minutos mientras se continúa calentando a ebullición la solución suavemente. Enfriar la solución a aproximadamente 80 °C y titular con permanganato de potasio 0,1 N (SV) hasta punto final anaranjado amarillo. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de permanganato de potasio 0,1 N equivale a 9,095 mg de V₂O₅. Contiene no menos de 99,5 %.

P-EPQ - Mezcla de siete compuestos, correspondientes al producto de reacción del fosfito de di-ter-butilo con tricloruro de difósforo, en su reacción con bifenilo y 2,4-bis(1,1-dimetil)fenol.

Pepsina - Emplear *Pepsina (Preparaciones de enzima)*, con una actividad de 1,0 a 1,17 unidades de Pepsina por mg. La pepsina de actividad mayor puede reducirse a esta actividad mezclándola con pepsina de actividad inferior o con lactosa.

Peptona seca - (*Peptona de carne*) - Polvo pardo a amarillo rojizo, de olor característico pero no pútrido. Soluble en agua, con formación de una solución pardo amarillenta que tiene una reacción levemente ácida; insoluble en alcohol y éter.

Compuestos nitrogenados (Ensayo para reactivos) - Determinar por el método de Kjeldahl, empleando una muestra previamente secada a 105 °C hasta peso constante: contiene entre 14,2 y 15,5 % de N, que corresponde a no menos de 89 % de proteína.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 500 mg con 1 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 25 mg (5,0 %).

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 7,0 % de su peso.

Proteína coagulable - Calentar una solución filtrada (1 en 20) a ebullición: no se forma precipitado.

Proteasas - Mezclar 5 ml de una solución filtrada (1 en 10) con 20 ml de una solución filtrada de

sulfato de cinc (preparada disolviendo 50 g de la sal en 35 ml de agua): sólo se forma un precipitado leve en forma de flóculos.

Perclorato de litio - LiClO₄ - (PM: 106,4) - Cristales pequeños, blancos. Fácilmente soluble en agua; moderadamente soluble en alcohol, acetona, éter y acetato de etilo.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 20 g disueltos en 200 ml de agua (0,005 %).

pH - Entre 6,0 y 7,5, en una solución de 10 g en 200 ml de amoníaco y agua.

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,03 mg de Cl (0,003 %).

Sulfato (Ensayo para reactivos) - *Método II*. Disolver 40 g en 300 ml de agua, agregar 2 ml de ácido clorhídrico y calentar la solución a ebullición. Agregar 5 ml de cloruro de bario (SR), digerir en un baño de vapor durante 2 horas y dejar reposar durante toda la noche. Si se forma precipitado, filtrar, lavar e incinerar: el residuo no pesa más de 1 mg (0,001 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 5 ppm.

Hierro - Disolver 1 g en agua y diluir con agua a 20 ml. Agregar 1 ml de solución de clorhidrato de hidroxilamina (1 en 10), 4 ml de una solución acidificada de ortofenantrolina y 1 ml de solución de acetato de sodio (1 en 10) y dejar reposar durante 1 hora: cualquier color rojo producido no es más oscuro que el de un control que contiene 0,005 mg de Fe (5ppm).

Perclorato de magnesio anhidro - Mg(ClO₄)₂ - (PM: 223,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Perclorato de plomo - Pb(ClO₄)₂ · 3H₂O - (PM: 460,2) - Cristales blancos.

Valoración - Transferir aproximadamente 1,8 g, exactamente pesados, a un envase apropiado y disolver en 50 ml de agua. Pasar la solución a través de una columna apropiada corta de intercambio catiónico, recolectando el eluato en un envase apropiado. Lavar la columna con agua hasta que el eluato sea neutro frente al papel de tornasol azul y combinar los lavados con el primer eluato. Agregar 5 gotas de fenoltaleína (SR) y titular con hidróxido de sodio 0,1N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 23,07 mg de Pb(ClO₄)₂ · 3H₂O.

Perclorato de potasio - KClO₄ - (PM: 138,6) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Perclorato de sodio - NaClO₄ · H₂O - (PM:140,5) Cristales incoloros, deliquescentes. Se

descompone aproximadamente a 150 °C. Soluble en alcohol al 95%.

Valoración - Secar aproximadamente 1,5 g en un desecador al vacío a 80 °C hasta peso constante. Pesar exactamente alrededor de 750 mg de muestra, previamente secada y pulverizada, y mezclarlos con 5 g de nitrito de sodio pulverizado en un crisol de níquel, cubrir el crisol y calentar sobre llama libre hasta que la mezcla se funde totalmente. Mantener en este estado, sin elevar la temperatura, durante 30 minutos. Dejar enfriar, agregar 20 ml de agua caliente y digerir hasta que el material fundido se disuelva. Filtrar a un matraz aforado de 200 ml, lavar minuciosamente cualquier material no disuelto con agua caliente, enfriar, completar a volumen con agua y mezclar.

Transferir 50,0 ml de la solución a un erlenmeyer con tapón de vidrio de 250 ml, agregar 25,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV), agregar lentamente 6 ml de ácido nítrico diluido (1 en 6) y calentar en un baño de vapor para expulsar los óxidos de nitrógeno. Enfriar, agregar 3 ml de nitrobenzono, agitar vigorosamente durante 1 a 2 minutos, agregar 4 ml de sulfato férrico amónico (SR) y titular el exceso de nitrato de plata con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 12,24 mg de NaClO₄. Contiene no menos de 98,0 % de NaClO₄.

Materia insoluble - Disolver 10 g en 50 ml de agua, calentar a ebullición y filtrar a través de un crisol previamente pesado de vidrio sinterizado. Lavar perfectamente con agua, lavando el vaso de precipitados minuciosamente. Secar a 105 °C durante 2 horas y pesar. El peso del residuo insoluble no es mayor de 1 mg (0,01 %).

Clorato y cloruro (como Cl) - Disolver 1 g en 10 ml de agua, agregar 1 ml de sulfato ferroso 0,1 N y calentar en un baño de vapor durante 15 minutos. Enfriar, diluir con agua a 50 ml y agregar 1 ml de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata (SR). Cualquier turbidez no excede la producida por 0,1 mg de cloruro (Cl) contenido en un blanco tratado en forma similar (0,01 % de Cl).

Sulfato - Disolver 1 g en 10 ml de agua y agregar 0,05 ml de ácido clorhídrico diluido y 1 ml de cloruro de bario (SR). Cualquier turbidez producida en 10 minutos no excede la producida por un blanco que contenga 0,05 mg de SO₄ (0,005 %).

Calcio - Disolver 500 mg en 10 ml de agua caliente, agregar 0,25 ml de amoníaco (SR) y 3 ml de oxalato de amonio (SR) y mantener la solución en caliente. No se produce turbidez en 5 minutos (aproximadamente 0,02 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - Disolver 1 g en 25 ml de agua. No más de 0,002 %.

Perclorato de tetraetilamonio - (C₂H₅)₄NClO₄ - (PM: 229,7) - Cristales blancos. Soluble en agua. Emplear uno de grado apropiado.

Periodato de potasio - (*Metaperiodato de potasio*) - KIO₄ - (PM: 230,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Periodato de sodio - (*Metaperiodato de sodio*) - NaIO₄ - (PM: 213,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Permanganato de potasio - KMnO₄ - (PM: 158,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Peróxido de hidrógeno al 30 % - H₂O₂ - (PM: 34,0) - Emplear *Agua oxigenada concentrada*.

Peróxido de sodio - Na₂O₂ - (PM: 78,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Persulfato de amonio - (NH₄)₂S₂O₈ - (PM: 228,2) Emplear un reactivo analítico apropiado.

Persulfato de potasio - K₂S₂O₈ - (PM: 270,3) - Emplear peroxodisulfato de potasio grado reactivo.

2-Picolina - C₆H₇N - (PM: 93,1) - Líquido incoloro a amarillento.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 2 m × 2 mm con fase estacionaria líquida constituida por un compuesto de polietilenglicol al 20 % (p.m.p aproximadamente 15.000 [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido]), sobre un soporte preparado con ladrillo refractario molido y calcinado o quemado, con una arcilla como aglutinante, por arriba de los 900 °C con lavado ácido posterior, la cual puede ser silanizada, de malla 80 a 100. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 140 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 90 °C y se programa un ascenso de 3 °C por minuto hasta 140 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico C₆H₇N no es menor de 98 % del área total.

Índice de refracción - 1,500 ± 0,002, a 20 °C.

Pícrico, ácido - Ver *Ácido Pícrico*.

Piedra pómez - Sustancia de origen volcánico que consta principalmente de silicatos complejos de aluminio y metales alcalinos. Existe como masas muy livianas, duras, ásperas, porosas, grises o como

un polvo color gris. Es insoluble en agua y no es atacado por ácidos diluidos.

Sustancias solubles en agua y en ácidos - En un balón equipado con un refrigerante, calentar a ebullición 2,0 g de piedra pómez pulverizada con 50 ml de ácido clorhídrico diluido durante 30 minutos. Enfriar y filtrar. A la mitad del filtrado, agregar 5 gotas de ácido sulfúrico, evaporar hasta sequedad, someter a ignición y pesar: el residuo no pesa más de 60 mg (6,0 %).

Piperidina - $C_5H_{11}N$ - (PM: 85,2) - Líquido incoloro. Miscible con agua y alcohol. Densidad relativa: aproximadamente 0,860.

Temperatura de solidificación <180> - Entre 12 y 15 °C.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 95 % destila entre 104 y 106 °C.

Índice de refracción <230> - Aproximadamente 1,454.

Pireno - $C_{16}H_{10}$ - (PM: 202,3) - Cristales de color entre blanco y amarillo claro.

Valoración - Transferir aproximadamente 9 mg, exactamente pesados, a un matraz aforado de 100 ml, disolver en metanol, completar a volumen con metanol y mezclar. Transferir 2,0 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con metanol y mezclar. Determinar la absorbancia de la solución en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente a 238 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando metanol como blanco. Calcular la absorbancia (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*): la absorbancia no es menor de 432,9, correspondiente a no menos de 98 % de $C_{16}H_{10}$.

Intervalo de fusión <260> - Entre 149 y 153 °C, con un intervalo de fusión de 2 °C.

1-(2-Piridilazo)-2-naftol - $C_{15}H_{11}N_3O$ - (PM: 249,3) - Cristales estables, rojo anaranjado. Poco soluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones calientes de álcalis diluidos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 140 y 142 °C.

Sensibilidad - Agregar 0,1 ml de una solución (1 en 1.000) en alcohol a una mezcla de 10 ml de agua y 1 ml de una solución reguladora preparada mezclando 80 ml de ácido acético 0,2 M y 20 ml de solución de acetato de sodio (8,2 en 100) y mezclar. A esta solución agregar 1 ml de una mezcla de 1 ml de sulfato cúprico (SR) y 2 ml de agua y mezclar: el color cambia de amarillo a rojo.

Piridina - C_5H_5N - (PM: 79,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Piridina seca - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Piroantimoniato de potasio - (*Hexahidroxian-timoniato de potasio*) - $KSbO_3 \cdot 3H_2O$ - (PM: 262,9) - Cristales blancos o polvo cristalino blanco. Ligeramente soluble en agua. Emplear uno de grado apropiado.

Pirofosfato de potasio - $K_4P_2O_7$ - (PM: 330,3) - Gránulos incoloros delicuescentes. Fácilmente soluble en agua; insoluble en alcohol.

Pirofosfato de sodio - $Na_4P_2O_7$ - (PM: 265,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Pirogalol - $C_6H_3(OH)_3$ - (PM: 126,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Pirosulfato de potasio - Generalmente disponible como una mezcla de piro sulfato de potasio ($K_2S_2O_7$) y bisulfato de potasio ($KHSO_4$) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Pirrol - C_4H_5N - (PM: 67,1) - Líquido transparente, incoloro cuando está recientemente destilado, tornándose amarillo en unos pocos días. Tiene un olor característico. Densidad relativa: aproximadamente 0,94. Insoluble en agua; soluble en alcohol y éter.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - No menos de 90 % destila entre 128 y 132 °C.

Pirrolidinatiocarbamato de amonio - (*1-pirrolidinilditioformiato de amonio*) - $C_5H_{12}N_2S_2$ - (PM: 164,3) - Polvo cristalino blanco o amarillo pálido. Moderadamente soluble en agua; muy poco soluble en alcohol. Conservar en un envase que contenga un trozo de carbonato de amonio envuelto en una gasa.

Piruvato de sodio - CH_3COCO_2Na - (PM: 110,0) - Polvo o sólido cristalino blanco o prácticamente blanco. Soluble en agua.

Valoración - Transferir aproximadamente 300 mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados para titulación de paredes altas, agregar 150 ml de ácido acético glacial y agitar hasta disolución. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente, empleando un electrodo de vidrio y un electrodo de calomel modificado para emplear cloruro de tetrametilamonio 0,1 N en metanol como electrolito. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 11,00 mg de CH_3COCO_2Na . Contiene no menos de 98,0 %.

Solubilidad - Disolver 1,5 g en 25 ml de agua: la solución es transparente y completa.

Ácido libre - Disolver 10 g en 150 ml de agua y titular con hidróxido de sodio 0,5 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente: no se

requieren más de 2,8 ml de hidróxido de sodio 0,5 N (aproximadamente 1 % como $C_3H_4O_3$).

Poli[(cianopropil)metil]fenilmetilsiloxano - Contiene 25 por ciento de grupos cianopropilo, 25 por ciento de grupos fenilo y 50 por ciento de grupos metilo (masa molecular relativa media 8.000). Líquido muy viscoso, aprox. 9.000 mPa-s.

Densidad relativa - Aprox. 1,10 a 20 °C.

Índice de refracción <230> - Aprox. 1,502.

Polietilenglicol 400 - (p.m.p.: 400) - Mezcla de polímeros representado por $H-(OCH_2-CH_2)_n-OH$ - Líquido, límpido, viscoso, higroscópico, incoloro o casi incoloro. Miscible en agua. Muy soluble en acetona, alcohol y cloruro de metileno, prácticamente insoluble en éter, aceites grasos y aceites minerales.

Polietilenglicol 600 - (p.m.p.: 600) - Polímero de condensación líquido transparente, prácticamente incoloro, viscoso representado por $H(OCH_2CH_2)_nOH$, donde n varía de 12 a 14.

Cumple con los requisitos de todos los ensayos para *Polietilenglicol 400*, excepto *Límite de etileno y dietilenglicol*.

Polietilenglicol 4.000 - Intervalo de peso molecular: 4.345-5.272 - Polímero de condensación del óxido de etileno en agua, que corresponde a la fórmula general, $H-(OCH_2-CH_2)_nOH$, siendo n variable entre 70 y 85. Masa sólida amorfa o con forma de escamas, de aspecto céreo de color blanquecino o cremoso pálido, con una textura semejante a la de la parafina; prácticamente inodora e insípida. Soluble en 4 partes de agua destilada, en 2,5 partes de alcohol y en 2 partes de cloroformo; insoluble en éter.

Polietilenglicol 20.000 - Intervalo de peso molecular: 15.000-20.000 - Sólido duro, blanco, céreo, generalmente provisto en forma escamas. Soluble en agua con posterior formación de un gel.

Viscosidad de la solución al 25 % <190> - Agregar 50,0 g de muestra a un frasco de boca ancha de 250 ml, con tapa a rosca que contiene 150,0 g de agua. Tapar el frasco firmemente y agitar en un agitador mecánico durante 2 a 4 horas hasta que la muestra se disuelva completamente. Dejar la solución en reposo hasta que hayan desaparecido todas las burbujas de aire. Se pueden requerir entre otras 2 a 4 horas. Ajustar la temperatura de la solución a $37,8 \pm 0,1$ °C y determinar la viscosidad cinemática en un viscosímetro apropiado del tipo Ubbelohde (ver 190. *Determinación de la viscosidad*). La viscosidad no es menor de 100 centistokes.

pH <250> - Entre 6,5 y 8,0 en una solución (1 en 20). [NOTA: se puede emplear una dilución de cinco veces la solución muestra preparada para el ensayo de *Viscosidad de la solución al 25 %*.]

Residuo de ignición <270> - No más de 0,7 %, omitiendo el empleo de ácido sulfúrico.

Polioxietilen (23) lauril éter - Emplear uno de grado apropiado.

Polvo de cerebro de buey desecado con acetona - Ver cerebro de buey desecado con acetona, polvo de.

Preparación de enzima sulfatasa - Emplear uno de grado apropiado.

2-Propanol - (*Alcohol isopropílico, Isopropanol*) - C_3H_8O - (PM: 60,1) - Líquido transparente e incoloro, inflamable, miscible con agua y alcohol.

Densidad relativa - Aprox. 0,785.

Intervalo de punto de ebullición - Entre 81 y 83 °C.

Propilenglicol - Emplear *Propilenglicol*.

Protamina sulfato - Emplear *Protamina, Sulfato de*.

Purina - $C_5H_4N_4$ - (PM: 120,1) - Polvo blanco a casi blanco.

Cuando se analiza por cromatografía en capa delgada empleando placas recubiertas con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor y una fase móvil que consiste en alcohol butílico, agua y ácido cético glacial (60:25:15), presenta una sola mancha.

Intervalo de fusión <260> - Entre 214 y 217 °C.

Púrpura de m-cresol - $C_{21}H_{18}O_5S_2$ - (PM: 382,4) - Emplear un reactivo de grado apropiado.

Púrpura de ftaleína - $C_{32}H_{32}N_2O_{12} \cdot xH_2O$ - (PM: 637 sobre la sustancia anhidra) - Polvo blanco amarillento a parduzco; soluble en alcohol, prácticamente insoluble en agua.

Sensibilidad - Disolver 10 mg de púrpura de ftaleína en 1 ml de amoníaco concentrado y diluir a 100 ml con agua. A 5 ml de esta solución agregar 95 ml de agua, 4 ml de amoníaco concentrado, 50 ml de alcohol y 0,1 ml de cloruro de bario 0,1 M. La solución obtenida es azul violácea. Agregar 0,15 ml de edetato de sodio 0,1 M: la solución se decolora.

Q

Quercetina - (2-3,4-dihidroxifenil)-3,5,7-trihidroxi-4H-1-benzopiran-4-ona) - $C_{15}H_{10}O_7 \cdot H_2O$ - (PM: 338,2) - Cristales amarillos o polvo amarillento. Soluble en acetona y alcohol e insoluble en agua.

Agua <120> - No más de 12,0 %, determinada en 0,100 g.

Valoración - Proceder según se indica en *Valoración en Hoja de Ginkgo*. El contenido de quercetina no debe ser menor de 90,0 %, calculado sobre la sustancia anhidra por el procedimiento de normalización.

Queroseno - Corresponde a una mezcla de hidrocarburos, principalmente de la serie del metano. Líquido transparente, incoloro, de olor característico, pero no desagradable. Destila entre 180 y 300 °C. Densidad relativa: aproximadamente 0,80.

Quinhidrona - $C_6H_4(OH)_2 \cdot C_6H_4O_2$ - (PM: 218,2) - Cristales verdes con un reflejo metálico. Poco soluble en agua fría; soluble en agua caliente, alcohol y éter.

Valoración - Transferir aproximadamente 450 mg, exactamente pesados, a un erlenmeyer con tapón de vidrio, agregar 50 ml de ácido sulfúrico 1 N y 3 g de yoduro de potasio, tapar y agitar hasta disolución. Titular el yodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 5,405 mg de quinona ($C_6H_4O_2$). Contiene entre 49,0 y 51,0 %.

Materia insoluble en alcohol - Disolver 10 g en 100 ml de alcohol caliente, filtrar a través de un crisol previamente pesado de porosidad fina y lavar con alcohol caliente hasta que el último lavado sea incoloro. Secar a 105 °C, enfriar en un desecador y pesar: el residuo no pesa más de 1,0 mg (0,010 %).

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,050 %, empleando una muestra de 2,0 g. [NOTA: retener el residuo].

Sulfato - Transferir 1 g a un crisol de platino, agregar 10 ml de agua caliente y 0,5 g de carbonato de sodio, evaporar hasta sequedad e incinerar, protegido del azufre en la llama, hasta que el residuo sea casi blanco. Enfriar, agregar 20 ml de agua y 1 ml de peróxido de hidrógeno al 30 %, calentar a ebullición suavemente durante unos pocos minutos, agregar 2 ml de ácido clorhídrico y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Enfriar, disolver el residuo en 20 ml de agua, filtrar y, al filtrado, agregar 1 ml de ácido clorhídrico 1 N y 3 ml de cloruro de bario (SR): cualquier turbidez producida dentro de los 10 minutos no es mayor a la de un control que contenga 0,2 mg de SO_4 , 0,5 mg de carbonato de sodio, 1 ml de peróxido de hidrógeno al 30 % y 2 ml de ácido clorhídrico previamente evaporado en un baño de vapor hasta sequedad (0,02 %).

Metales pesados - Al residuo retenido del ensayo para *Residuo de ignición*, agregar 2 ml de ácido clorhídrico y 0,5 ml de ácido nítrico y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Disolver el residuo en 30 ml de agua caliente con 1 ml de ácido clorhídrico 1 N, enfriar, diluir con agua a 40 ml y mezclar. Diluir 20 ml de esta solución (retener el resto de la solución) con agua a 25 ml, ajustar a pH entre 3,0 y 4,0 agregando hidróxido de amonio 6 N o ácido acético 1 N, según sea necesario, diluir con agua a 40 ml y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR) recientemente preparado: cualquier color pardo producido no es mayor al de un control que contenga a 0,02 mg de Pb (0,002 %).

Hierro <580> - A 10 ml de la solución retenida del ensayo para *Metales pesados*, agregar 2 ml de ácido clorhídrico y diluir con agua a 47 ml: la solución presenta no más de 0,01 mg de Fe (0,002 %).

Quinona - Ver *p*-Benzoquinona.

R

Reactivo de Girard T - Ver Cloruro de trimetilacetohidrazida amonio.

Reineckato de amonio - (*Sal de Reinecke*) - $\text{NH}_4[\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{SCN})_4] \cdot \text{H}_2\text{O}$ - (PM: 354,4) - Cristales rojo oscuro o polvo rojo cristalino. Moderadamente soluble en agua fría; más soluble en agua caliente. Se descompone gradualmente en solución.

Sensibilidad - Disolver 50 mg en 10 ml de agua. Agregar 0,2 ml de la solución a 1 ml de una solución preparada disolviendo 10 mg de cloruro de colina en 20 ml de agua y agitar suavemente: se forma un precipitado característico a los 5 ó 10 segundos.

Resazurina sódica - $\text{C}_{12}\text{H}_6\text{NNaO}_4$ - (PM: 251,2) - Polvo pardusco púrpura, cristalino. 1 g se disuelve en 100 ml de agua, formando una solución de color violeta profundo.

El Sulfuro de hidrógeno y otros compuestos que contienen el grupo tiol decoloran las soluciones de resazurina sódica, formando dihidroresorufina. Cuando la solución decolorada se agita en presencia de aire, se desarrolla un color rosa, resultado de la formación de resorufina.

Resina de intercambio aniónico de malla 50 a 100, estireno-divinilbenceno - Resina altamente básica, entrecruzada, que contiene grupos amonio cuaternario y aproximadamente 4 % de divinilbenceno. Consiste en cuentas de color canela que pueden tener características de libre fluidez. Está disponible en la forma de cloruro que puede convertirse a la forma de hidróxido por regeneración con una solución de hidróxido de sodio (5 en 100). Para una regeneración satisfactoria se requiere un tiempo de contacto de por lo menos 30 minutos, luego del cual debe ser lavada para eliminar el exceso de álcali libre. Insoluble en agua, metanol y acetonitrilo. Apropia para uso en cromatografía en columna.

Contenido de humedad de la resina hinchada y regenerada - Transferir 10 a 12 ml de la resina (tal como se la recibe) a un matraz y convertirla completamente a la forma de cloruro agitando con 150 ml de ácido clorhídrico (5 en 100) durante no menos de 30 minutos. Decantar el ácido y lavar la resina de la misma manera con agua destilada hasta que el agua de lavado sea neutra frente al papel de tornasol. Transferir 5 a 7 ml de la resina regenerada a un crisol de vidrio filtrante y remover sólo el agua superficial excesiva filtrando cuidadosamente por succión. Transferir la resina acondicionada y seca a un pesafiltro previamente pesado y pesar. Secar en estufa de vacío entre 100 y 105 °C y a una presión

de 50 mm Hg durante 16 horas. Transferir de la estufa de vacío a un desecador y enfriar a temperatura ambiente. Pesar nuevamente. La pérdida de peso está entre 50 y 65 %.

Capacidad total de nuevo volumen - Transferir 2,5 a 3 ml de la resina acondicionada, sin secar (ver *Contenido de humedad de la resina hinchada y regenerada*) a una probeta de 5 ml y completar a volumen con agua. Eliminar las burbujas de aire del lecho de la resina con un alambre de acero inoxidable y sedimentar la resina a su volumen mínimo golpeando suavemente la probeta contra una superficie dura. Registrar el volumen de la resina. Transferir la resina con 100 ml de agua a un matraz de 250 ml. Agregar 2 ml de ácido sulfúrico, calentar entre 70 y 80 °C y mantener esa temperatura durante 5 minutos agitando ocasionalmente (no calentar a ebullición). Enfriar a temperatura ambiente y agregar 2,5 ml de ácido nítrico (1 en 2), 2 ml de sulfato férrico amónico (SR) y 0,20 ml de tiocianato de amonio 0,1 N. Titular con nitrato de plata 0,1 N (SV) hasta que la solución se torne incolora y agregar un exceso medido (1 a 5 ml). Calentar a ebullición para coagular el precipitado de cloruro de plata. Enfriar a temperatura ambiente, agregar 10 ml de nitrobenzono, agitar vigorosamente y titular el nitrato de plata en exceso con tiocianato de amonio 0,1 N (SV).

$$\text{Vol.neto AgNO}_3 \times \text{N} / \text{ml de resina} = \text{mEq/ml}$$

La capacidad total de intercambio de la resina húmeda regenerada es mayor de 1,0 mEq por ml.

Análisis por tamizado húmedo - Se emplea para identificar apropiadamente el tamaño de la malla de la resina. Para obtener un resultado exacto se requieren aparatos y técnicas especiales. Agregar 150 ml de resina a 200 ml de agua destilada en un recipiente apropiado y dejar reposar durante no menos de 4 horas para que la resina se hinche completamente. Transferir con la ayuda de una probeta de 100 ml la resina sedimentada y completamente hinchada al tamiz más alto de una serie (N° 20, 50, 100) de bronce de 20,3 cm. Lavar a fondo la resina en cada tamiz con una corriente de agua destilada hasta que la resina se tamice completamente, recogiendo el agua del lavado en un envase apropiado. Transferir las cuentas que permanecen en los tamices respectivos a la probeta de 100 ml y registrar el volumen de resina sedimentada en cada tamiz: no menos de 80 % de la resina está entre los tamices N° 50 y 100.

Resina de intercambio aniónico fuerte, levemente entrecruzada, en la forma de cloruro - Emplear uno de grado apropiado.

Resina de intercambio aniónico, poliestireno-divinilbenceno clorometilada - Resina altamente básica, entrecruzada, que contiene grupos amonio cuaternario. Consta de pequeñas cuentas, húmedas, amarillas que tienen un olor a amina característico. Está disponible en la forma de cloruro que puede convertirse en hidróxido por regeneración con solución de hidróxido de sodio (1 en 4). Para una regeneración satisfactoria se requiere un tiempo de contacto de aproximadamente 25 minutos, luego del cual debe lavarse con agua hasta neutralidad. Es apropiada para emplearse en cromatografía en columna.

Resina de intercambio catiónico - Emplear uno de grado apropiado.

Resina de intercambio catiónico, ácido sulfónico - Emplear uno de grado apropiado.

Resina de intercambio catiónico, carboxilato (forma sódica) (N° 50 a 100) - Emplear uno de grado apropiado.

Resina de intercambio catiónico de poliestireno - Emplear uno de grado apropiado.

Resina de intercambio catiónico, estireno-divinilbenceno - Resina sulfonada altamente ácida, entrecruzada, que contiene aproximadamente 2 % de divinilbenceno. Consiste en cuentas de color blanco a tostado transparente que pueden tener, relativamente, libre fluidez. Está disponible en la forma de hidrógeno en los tamaños de malla de 25 a 50, 45 a 100 y 80 a 270. Puede regenerarse a la forma de hidrógeno mediante el tratamiento con una solución de ácido clorhídrico (5 en 100). Para una regeneración satisfactoria se requiere un tiempo de contacto de no menos de 30 minutos luego debe ser lavado el exceso libre de ácido. Es insoluble en agua, metanol y acetonitrilo. Apropiada para emplearse en cromatografía en columna.

Contenido de humedad de la resina totalmente regenerada e hinchada - Transferir 10 a 12 ml de la resina (como se recibe) a un matraz y convertirla completamente a la forma de hidrógeno agitando con 150 ml de solución de ácido clorhídrico (5 en 100) durante no menos de 30 minutos. Decantar el ácido y lavar la resina de la misma manera con agua hasta que el agua del lavado sea neutra frente al papel de tornasol (pH 3,5). Transferir 5 a 7 ml de la resina regenerada a un crisol filtrante de vidrio y remover solamente el exceso de agua superficial filtrando, cuidadosamente, por succión. Transferir la resina acondicionada a un pesafiltro, previamente

pesado, y pesar. Secar en una estufa de vacío a una presión de 50 mm Hg entre 100 y 105 °C durante 16 horas. Transferir a un desecador y enfriar a temperatura ambiente. Pesar nuevamente. La pérdida de peso es entre 75 y 83 %.

Capacidad total de volumen húmedo - Transferir 3 a 5 ml de la resina regenerada, sin secar (ver *Contenido de humedad de la resina totalmente regenerada e hinchada*) a una probeta de 5 ml y llenarla con agua. Retirar las burbujas de aire del lecho de la resina con un alambre de acero inoxidable y dejar sedimentar la resina a su volumen mínimo golpeando suavemente la probeta sobre una superficie. Registrar el volumen de la resina. Transferir la resina a un vaso de precipitados de 400 ml. Agregar aproximadamente 5 g de cloruro de sodio y titular, agitando, con hidróxido de sodio 0,1 N hasta punto final azul con azul de bromotimol (pH 7,0).

$$\text{Vol.neto NaOH} \times \text{N} / \text{ml de resina} = \text{mEq/ml}$$

La capacidad total de volumen húmedo de la resina es más de 0,6 mEq por ml.

Análisis por tamizado húmedo - Se emplea para identificar apropiadamente el tamaño de la malla de la resina. Para obtener un resultado exacto se requieren aparatos y técnicas especiales. Agregar 150 ml de resina a 200 ml de agua en un recipiente apropiado y dejar reposar por lo menos 4 horas para hinchar completamente la resina. Transferir por medio de una probeta, 100 ml del sedimento y resina completamente hinchada al tamiz superior de una serie de tamices estandarizados. Lavar a fondo la resina en cada tamiz con una corriente de agua hasta que la resina se clarifique completamente, recogiendo el agua del lavado en un envase apropiado. Transferir las cuentas que permanecen en los tamices respectivos a la probeta de 100 ml y registrar el volumen de resina que sedimentó en cada tamiz. Al menos 70 % de la resina está dentro del tamaño específico de la malla.

Resina de intercambio catiónico, estireno-divinilbenceno, fuertemente ácida - Emplear uno de grado apropiado.

Resina de intercambio iónico - Una mezcla íntima de 4 partes de un intercambiador catiónico altamente ácido en la forma de hidrógeno (producido por sulfonación de un copolímero de estireno-divinilbenceno, representando 8 a 10 % de divinilbenceno) y 6 partes de un intercambiador aniónico altamente básico en la forma hidroxilo (producido por aminación con trimetilamina de un copolímero clorometilado de estireno-divinilbenceno, representando 3 a 5 % de divinilbenceno).

Resorcinol - Emplear *Resorcinol*.

Rodamina B - (*Tetraetilrodamina*) - (PM: 479,0) - $C_{28}H_{31}ClN_2O_3$ - Cristales verdes o polvo violeta rojizo. Muy soluble en alcohol; muy soluble en agua produciendo una solución rojo azulada que es marcadamente fluorescente cuando se diluye; poco soluble en ácidos diluidos y en soluciones alcalinas; en solución de ácidos fuertes, forma un complejo rosado con antimonio que es soluble en éter isopropílico.

Transparencia de la solución - Su disolución (1 en 200) es completa y transparente.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 1 ml de ácido sulfúrico; el residuo pesa menos de 2 mg (0,2 %).

Rojo congo - $C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$ - (PM: 696,7) - Polvo pardo oscuro, rojo o rojizo. Es inodoro y se descompone por exposición a los gases ácidos. Las soluciones tienen un pH de aproximadamente 8 a 9,5. 1 g se disuelve en aproximadamente 30 ml de agua; poco soluble en alcohol.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 4 horas: no pierde más de 3,0 % de su peso.

Residuo de ignición - Pesar con exactitud aproximadamente 1 g, previamente secado a 105 °C durante 4 horas, y colocarlo en una cápsula de porcelana o crisol. Someter a ignición cuidadosamente hasta carbonizar. Enfriar, agregar 2 ml de ácido sulfúrico e incinerar cuidadosamente hasta que el residuo sea blanco o prácticamente blanco. Enfriar, agregar 0,5 ml de ácido sulfúrico y 1 ml de ácido nítrico, evaporar y nuevamente incinerar hasta peso constante: el peso del sulfato de sodio obtenido es entre 20,0 y 24,0 % de la muestra seca tomada.

Sensibilidad - A 50 ml de agua agregar 0,1 ml de solución de rojo congo (1 en 1.000). El color rojo de la solución cambia a violeta por el agregado de 0,05 ml de ácido clorhídrico 0,10 N y se restaura al agregar 0,05 ml de hidróxido de sodio 0,10 N.

Rojo de rutenio - (*Oxicloruro de rutenio amoniacal*) - $Ru_2(OH)_2Cl_4 \cdot 7NH_3 \cdot 3H_2O$ - (PM: 551,2) - Polvo rojo pardusco a púrpura oscuro. Soluble en agua.

Rosa de bengala, sal sódica - (*Sal disódica de 4,5,6,7-Tetracloro-2',4',5',7'-tetraiodofluoresceína*) - $C_{20}H_2Cl_4I_4Na_2O_5$ - (PM: 1.017,6) - Cristales finos

de color rosa o polvo cristalino. Es prácticamente inodoro. Soluble en agua.

[NOTA: purificar el material comercial mediante el siguiente tratamiento: disolver 8 g en 200 ml de agua y ajustar hasta pH entre 10 y 11, empleando papel indicador de intervalo estrecho. Agregar 200 ml de acetona, agitando ligeramente, luego agregar ácido clorhídrico diluido (1 en 10) mientras se continúa agitando, hasta alcanzar pH 4,0. Agregar 400 ml más de agua, con agitación, y continuar agitando aproximadamente 5 minutos. Filtrar los cristales en un embudo filtrante y colocarlos nuevamente en el vaso de precipitados empleado para la cristalización. Recristalizar tres veces más del mismo modo y secar los cristales a 110 °C durante 12 horas. Almacenar en un recipiente ámbar en refrigerador a una temperatura entre 2 y 8 °C. Preparar este reactivo mensualmente].

Pureza cromatográfica - Disolver 100 mg de Rosa de bengala sódico, preparado según se describe anteriormente, en 100 ml de agua y aplicar 10 µl de la solución sobre papel cromatográfico apropiado. Desarrollar el cromatograma por cromatografía ascendente, empleando una mezcla de 1 parte de alcohol diluido (1 en 4) y 1 parte de amoníaco concentrado diluido (1 en 12). Examinar el cromatograma con luz natural y bajo luz ultravioleta a 360 nm: no se observa ninguna mancha coloreada ni fluorescente con excepción de la mancha del Rosa de bengala sódico.

Rutina - (*3-(O-6-desoxi- α -L-manopiranosil-(1→6)- β -D-glucopiranosil)-2-(3,4-dihidroxifenil)-5,7-dihidroxi-4H-cromen-4-ona*) - $C_{27}H_{30}O_{16} \cdot 3H_2O$ - (PM: 665,0) - Rutósido. Polvo cristalino amarillo, que se torna pardo a la luz, soluble en 400 partes de agua a ebullición y en disoluciones de hidróxidos alcalinos y amoníaco, poco soluble en alcohol, muy poco soluble en agua y prácticamente insoluble en éter.

Punto de fusión <260> - Aprox. 210 °C, con descomposición.

Absorción ultravioleta <470> - Una solución de rutina en alcohol debe presentar dos máximos de absorción a 259 y 362 nm.

S

Sacarosa - Emplear *Sacarosa*.

Safranina O - Consiste en una mezcla de cloruro de 3,7-diamino-2,8-dimetil-5-fenilfenazinio ($C_{20}H_{19}ClN_4$ - PM: 350,9) y cloruro de 3,7-diamino-2,8-dimetil-5-o-tolilfenazinio ($C_{21}H_{21}ClN_4$ - PM: 364,9) - Polvo rojo oscuro. Moderadamente soluble en alcohol al 70 %, proporcionando una solución roja transparente con fluorescencia rojo amarillenta.

Identificación -

A - Agregar a 10 ml de una solución al 0,5 % p/v, 5 ml de ácido clorhídrico: se produce una solución violeta azulada.

B - Agregar a 10 ml de una solución al 0,5 % p/v, 5 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 5): se produce un precipitado rojo pardusco.

C - Agregar a 100 mg, 5 ml de ácido sulfúrico: se produce una solución verde. Por dilución cambia a azul y finalmente a rojo.

Características de absorción - Disolver 50 mg en 250 ml de alcohol al 50 %. Diluir 3 ml de esta solución con alcohol al 50 % hasta obtener 200 ml. Determinar la absorbancia, en una celda de 1 cm, con un espectrofotómetro apropiado. El máximo de absorción está en el intervalo entre 530 y 533 nm, el cociente $(A - 15)/(A + 15)$ está entre 1,10 y 1,32, en la cual *A* es la longitud de onda de máxima absorción.

Sal de fast blue B - $C_{14}H_{12}N_4O_2 \cdot ZnCl_4$ - (PM: 475,5) - Polvo verde.

Pérdida por secado <680> - Secar al vacío a 110°C durante 1 hora: no pierde más de 5,0 % de su peso.

Absorbancia - Disolver 50 mg en 100 ml de agua. En un segundo envase disolver 100 mg de 2-naftol en 100 ml de 2-metoxietanol. Transferir 5 ml de la solución y 10 ml de la solución de 2-naftol a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con acetona. Para el blanco, transferir 5 ml de agua y 10 ml de solución de 2-naftol a un segundo matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con acetona. Determinar la absorbancia de la solución muestra, en una celda de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente a 545 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando el blanco para llevar a cero la lectura del aparato: la absorbancia no es menor de 0,80.

Sal de fast blue BB - $(C_{17}H_{18}ClN_3O_3)_2 \cdot ZnCl_2$ - (PM: 831,9) - Polvo amarillo que funde aproximadamente a 162 °C, con descomposición. Moderadamente soluble en agua.

Cloruro - Transferir aproximadamente 80 mg, exactamente pesados, a un vaso de precipitados. Agregar 25 ml de acetona, 25 ml de agua y 500 mg de nitrato de sodio. Agitar hasta disolución completa. Titular con nitrato de plata 0,01 N (SR), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Contiene no menos de 15,0 % de cloruro.

Sal disódica del ácido 3-(2-Piridil)5,6-di(2-furil)-1,2,4-triazina-5',5''-disulfónico - (PM: 494,4) $C_{16}H_8N_4Na_2O_8S_2$ - Polvo amarillo oscuro.

Sales biliares - Es un concentrado de bilis bovina, siendo su componente principal el desoxicolato sódico, determinado como ácido cólico. Soluble en agua y alcohol; las soluciones forman espuma cuando se agitan.

Substancias insolubles - Disolver 5 g en 100 ml de alcohol diluido (84 en 100), calentando si fuera necesario para favorecer la disolución. Filtrar dentro de los 15 minutos a través de un filtro previamente pesado y lavar con porciones pequeñas de alcohol diluido hasta que el último lavado sea incoloro o prácticamente incoloro luego secar el residuo a 105 °C durante 1 hora y pesar: el peso del residuo no es mayor de 0,1 %.

Valoración -

Solución estándar de ácido cólico - Disolver 50,0 mg de ácido cólico, exactamente pesados, en ácido acético diluido (6 en 10) para obtener 100 ml y mezclar. Almacenar en un refrigerador.

Procedimiento - Disolver 1,0 g, exactamente pesado, en 50 ml de ácido acético diluido (6 en 10). Filtrar la solución, si fuera necesario, a un matraz aforado de 100 ml, lavar el envase original y el filtro con porciones de ácido acético diluido (6 en 10), completar a volumen con ácido acético diluido (6 en 10) y mezclar. Diluir 10 ml de esta solución, exactamente medidos, con ácido acético diluido (6 en 10) hasta obtener 100 ml y mezclar. Transferir 1 ml de *Solución estándar de ácido cólico* y de la solución de Sales biliares a dos tubos de ensayo iguales. A cada tubo agregar 1ml, exactamente medido, de solución de furfural recientemente preparada (1 en 100); de inmediato colocar los tubos en un baño de hielo durante 5 minutos, agregar a cada tubo 13 ml, exactamente medidos, de ácido sulfúrico diluido, obtenido mezclando, cuidadosamente, 50 ml de ácido sulfúrico con 65 ml de agua. Mezclar el contenido de los tubos y colocarlos en un baño de agua mantenido a 70 °C durante 10 minutos. De inmediato transferir los tubos a un baño de hielo durante 2 minutos y determinar la absorbancia de cada solución a la longitud de onda de

máxima absorción, aproximadamente 670 nm, con un espectrofotómetro apropiado. Calcular la cantidad, en mg, de ácido cólico ($C_{24}H_{40}O_5$) en la cantidad tomada de las Sales biliares por la fórmula siguiente:

$$500(A_D/A_E)$$

en la cual A_D y A_E son las absorbancias de la solución de Sales biliares y de la *Solución estándar de ácido cólico*, respectivamente. Contiene no menos de 45 % de ácido cólico.

Salicilaldazina - $C_{14}H_{12}N_2O_2$ - (PM: 240,3) - Emplear uno de grado apropiado o preparar del siguiente modo. Disolver 300 mg de sulfato de hidracina en 5 ml de agua, agregar 1 ml de ácido acético glacial y 2 ml de una solución (1 en 5) de salicilaldehído en alcohol isopropílico preparada recientemente, mezclar y dejar reposar hasta que se forme un precipitado amarillo. Extraer la mezcla con dos porciones de 15 ml de cloruro de metileno. Combinar los extractos de cloruro de metileno y secar sobre sulfato de sodio anhidro. Decantar la solución de cloruro de metileno y evaporar hasta sequedad. Recristalizar el residuo de salicilaldazina a partir de una mezcla de tolueno caliente y metanol (60:40) con enfriamiento. Filtrar y secar los cristales al vacío.

Intervalo de fusión <260> - Entre 213 y 219 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 1 °C.

Cromatografía - Proceder según se indica en *Límite de Hidracina en Povidona*: el cromatograma presenta sólo una mancha.

Salicilaldehído - 2-HOC₆H₄CHO - (PM: 122,1) - Líquido transparente, de incoloro a verde amarillento. Densidad relativa: aproximadamente 1,17. Poco soluble en agua; soluble en alcohol y éter. Puede contener un estabilizante.

Temperatura de solidificación <180> - Entre 1,0 y 3,0 °C.

Índice de refracción <230> - Entre 1,573 y 1,574, a 20 °C.

Valoración - Cuando se analiza por cromatografía de gases, empleando aparatos y condiciones apropiadas, presenta una pureza de no menos de 98 %.

Salicilato de etilo - $C_9H_{10}O_3$ - (PM: 166,2) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver *100. Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 10 m × 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de metilsilicona. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 240 y 300°C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 250 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de salicilato de etilo no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,5216 y 1,5236, a 20 °C.

Salicilato de isopropilo - (PM: 180,2) - $C_6H_4OHCOOCH(CH_3)_2$ - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver *100. Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 1,8 m × 2 mm con una fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano al 7 % sobre un soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales]. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y 310 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 50 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 250 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico principal no es menor de 97 % del área total.

Salicilato de sodio - Cumple con las especificaciones de *Salicilato de sodio* y con los requisitos del siguiente ensayo.

Nitrato - Disolver 100 mg en 5 ml de agua y verter cuidadosamente y sin mezclar la solución sobre 5ml de ácido sulfúrico: no aparece color rojo pardusco en la interfase de los dos líquidos.

Sal nitroso R - (*1-Nitroso-2-naftol-3,6-disulfonato disódico*) - $NOC_{10}H_4OH(SO_3Na)_2$ - (PM: 377,3) - Cristales o polvo cristalino amarillo. Moderadamente soluble en agua; insoluble en alcohol.

Sensibilidad - Disolver 500 mg de acetato de sodio en una solución de 0,4 mg de cloruro cobaltoso (0,1 mg de cobalto) en 5 ml de agua. Agregar 1 ml de ácido acético diluido y luego 1 ml de una solución de sal nitroso R (1 en 500): un color rojo, que se produce inmediatamente, persiste cuando la solución se calienta a ebullición con 1 ml de ácido clorhídrico durante 1 minuto.

Sal sódica del ácido 1-pentanosulfónico - Ver *1-Pentanosulfonato de sodio*.

Sebacato de bis(2-etilhexilo) - (*Diocil sebacato*) $C_8H_{17}OOC(CH_2)_8COOC_8H_{17}$ - (PM: 426,7) - Líquido amarillo pálido. Insoluble en agua. Apropiado para uso en cromatografía de gases. Índice de refracción: aproximadamente 1,448.

Densidad relativa <160> - Entre 0,913 y 0,917.

Intervalo de ebullición - Entre 243 y 248 °C, a 5 mm Hg.

Selenio - Se - (PA: 78,96) - Polvo rojo oscuro amorfo o polvo cristalino negro azulado. Insoluble en agua; soluble en soluciones de hidróxido de sodio o potasio o sulfuros.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - 1 g no produce más de 2 mg (0,2 %).

Metales pesados - Agregar al *Residuo de ignición* 3 ml de ácido clorhídrico y 2 ml de ácido nítrico, evaporar en un baño de vapor hasta sequedad, absorber el residuo en una mezcla de 2 ml de ácido clorhídrico diluido y 50 ml de agua caliente, enfriar, filtrar y lavar el filtro con agua suficiente para obtener 100 ml de filtrado (*Solución muestra*). A una alícuota de 30 ml de la *Solución muestra* agregar 10 ml de agua y 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): el color producido no es más oscuro que el de una *Solución control* preparada a partir de 3 ml de *Solución de plomo estándar* (ver 590. *Límite de Metales Pesados*, 0,03 mg de Pb), 0,2 ml de ácido clorhídrico 1 N, 37 ml de agua y 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR) (0,01 %).

Hierro - A 20 ml de la *Solución muestra* preparada en el ensayo para *Metales pesados* agregar 2 ml de ácido clorhídrico y diluir con agua a 47 ml: la solución no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,005 %).

Nitrógeno -

Solución de nitrógeno estándar - Disolver 382 mg de cloruro de amonio en agua para obtener 1 litro. Cada mililitro de esta solución equivale a 0,1 mg de nitrógeno (N).

Procedimiento - Calentar 1,0 g con 10 ml de ácido sulfúrico en un matraz de Kjeldahl hasta que la muestra se disuelva y el volumen de ácido se reduzca hasta aproximadamente 5 ml. Enfriar, diluir con precaución con 100 ml de agua, alcalinizar con solución de hidróxido de sodio (3 en 10) y destilar aproximadamente 75 ml de la solución en 5 ml de agua que contenga 2 gotas de ácido clorhídrico 1 N. Diluir el destilado con agua a 250 ml. A una alícuota de 50 ml de la solución agregar 1 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 10) y 2 ml de iodo mercuriato de potasio (SR): el color producido no es más intenso que el producido por 0,1 ml de *Solución de nitrógeno estándar* (0,01 mg de N) tratado de la misma manera que la muestra (0,005 %).

Azufre - Transferir 1,0 g, exactamente pesado, a un vaso de precipitados y agregar sucesivamente 5 ml de ácido nítrico, 10 ml de ácido clorhídrico y evaporar en un baño de vapor hasta sequedad. Agregar 10 ml de ácido clorhídrico y evaporar de nuevo lentamente hasta sequedad. Recolectar el residuo en 30 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 30), filtrar y lavar el filtro con agua para obtener aproximadamente 100 ml de filtrado. Calentar el filtrado a ebullición y agregar lentamente, agitando, 5 ml de cloruro de bario (SR). Digerir en un baño de vapor durante 4 horas. Filtrar a través de papel de filtro de porosi-

dad fina, lavar el precipitado hasta que esté libre de cloruro, someter a ignición y pesar. El peso del residuo de sulfato de bario, multiplicado por 0,1374, representa el azufre (S) presente. Contiene no más de 0,5 mg de S (0,05 %).

Selenometionina - $C_5H_{11}NO_2Se$ - (PM: 196,1) - *Precaución* - Manipular con cuidado, ya que este reactivo es altamente tóxico.

Valoración - Pesar exactamente 750 mg, disolver en 100 ml de metanol, agregar cristal violeta (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N hasta punto final verde azulado. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 19,61 mg de $C_5H_{11}NO_2Se$. Contiene entre 97,0 y 103,0 %, calculado sobre la sustancia.

Intervalo de fusión <260> - Aprox. 260 °C, con descomposición.

Determinación de nitrógeno <200> - Determinar por el método Kjeldahl. Contiene entre 6,8 y 7,4 %, calculado sobre la sustancia.

Silicato de magnesio activado - Emplear uno de grado apropiado.

Silicato de magnesio para cromatografía - Gel de sílice y magnesia sumamente blanco, duro, pulverizado (malla 60 a 100). Apropiado para uso como adsorbente para cromatografía en columna.

Sílice cromatográfica, silanizada, calcinada, lavada con ácido - Emplear uno de grado apropiado.

Sílice, microesferas - Emplear uno de grado apropiado.

Sílice octilsilanizado para cromatografía, descativado para separación de compuestos básicos (gel de) - Gel de sílice de granulometría muy fina (3 a 10 μm) tratado antes de la introducción de grupos octadecilsililo por lavado cuidadoso e hidrólisis de la mayor parte de los enlaces siloxano con el objeto de reducir al mínimo la interacción con los compuestos básicos. Polvo blanco, fino, homogéneo. Prácticamente insoluble en agua y en alcohol.

Silicona (75 % fenil, metil) - Emplear uno de grado apropiado.

Sodio - Na - (PA: 22,99) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sodio, citrato de - Ver Citrato de sodio.

Sodio, metaperiodato de - Ver Metaperiodato de sodio.

Solución de bromuro de dimidio-azul sulfán - Disolver separadamente 0,5 g de bromuro de dimidio y 0,5 g de azul sulfán en 30 ml de una mezcla caliente de etanol y agua (1:9). Transferir ambas soluciones a un matraz aforado de 250 ml, mezclar y completar a volumen con el mismo solvente. Transferir

20 ml de esta solución a un matraz aforado de 500 ml, agregar 20 ml de una solución de ácido sulfúrico 14 % v/v diluida a 250 ml con agua y completar a volumen con agua. [NOTA: almacenar en envase inactivo].

Solución de formaldehído - HCHO - (PM: 30,0) y agua - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Solución de hidróxido de tetrametilamonio en metanol - $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$ - (PM: 91,2) - Se consigue comercialmente en concentraciones de 10 y 25 %. Las siguientes especificaciones se aplican específicamente a la concentración de 25 %; para otras concentraciones, pueden ser necesario ajustes apropiados en los procedimientos.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 1 g de la solución y diluir con agua hasta aproximadamente 50 ml. Agregar fenolftaleína (SR) y titular con ácido clorhídrico 0,1 N (SV) hasta la desaparición del color rosado. Cada mililitro de ácido clorhídrico 0,1 N (SV) equivale a 91,15 mg de $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$. Contiene entre 23 y 25 %.

Transparencia - Una porción de solución en un tubo de ensayo es transparente o sólo algo turbia, cuando se observa transversalmente.

Solución de hipoclorito de sodio - Es una solución de hipoclorito de sodio (NaOCl) en agua. Generalmente de color amarillo a verde amarillento. Tiene olor a cloro. Es afectada por la luz y se deteriora gradualmente. Almacenar en envases inactivos, preferentemente debajo de 25 °C.

Precaución - Esta solución es corrosiva y puede producir gases que son corrosivos y tóxicos. Es un oxidante potente que puede reaccionar violentamente con agentes reductores. Es irritante y corrosiva para la piel y mucosas.

Valoración - Transferir aproximadamente 3 ml a un matraz para iodo, previamente pesado, con tapón de vidrio y pesar exactamente. Agregar 50 ml de agua, 2 g de ioduro de potasio y 10 ml de ácido acético, insertar el tapón en el matraz y dejar reposar en la oscuridad durante 10 minutos. Retirar el tapón, lavar las paredes del matraz con agua y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 3,723 mg de NaOCl. Contiene no menos de 5,25 %. Si se desea calcular el porcentaje de cloro disponible, observar que cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N consumido equivale a 3,545 mg de cloro disponible.

Calcio - Transferir 10,0 g a un vaso de precipitados de 150 ml, disolver en 10 ml de agua y agregar 5 ml de ácido clorhídrico y 2 g de ioduro de potasio. Calentar la mezcla durante 5 minutos, enfriar y agregar 2 ml de peróxido de hidrógeno al 30 %. Evaporar

hasta sequedad, enfriar y agregar 2 ml de ácido clorhídrico y 2 ml de peróxido de hidrógeno al 30 %. Lavar las paredes internas del vaso de precipitados con agua y evaporar hasta sequedad. Recolectar el residuo en 20 ml de agua y filtrar si fuera necesario. Agregar al filtrado hidróxido de amonio hasta que la solución sea apenas alcalina luego agregar 4 gotas de hidróxido de amonio y 5 ml de oxalato de amonio (SR): la turbidez producida dentro de los 15 minutos no excede la de un blanco que contenga 0,1 mg de Ca llevando a cabo el procedimiento completo (0,001%).

Fosfato (Ensayo para reactivos) - Transferir 2 g a un vaso de precipitados y agregar 5 ml de ácido clorhídrico y 2 g de ioduro de potasio. Calentar la solución durante 5 minutos y enfriar. Agregar 2 ml de peróxido de hidrógeno al 30 % y evaporar la solución hasta sequedad. Lavar las paredes del vaso de precipitados con agua, agregar 2 ml de ácido clorhídrico y 2 ml de peróxido de hidrógeno al 30 %. Evaporar nuevamente hasta sequedad: el residuo no presenta más de 0,01 mg de PO_4 (5 ppm).

Solución de peróxido de hidrógeno - Emplear *Agua oxigenada*.

Solución estándar de perclorato de holmio - Emplear una solución con una concentración de 40 g por litro, preparada disolviendo óxido de holmio en una solución de ácido perclórico que contiene 141 g por litro.

Solución isotónica de cloruro de sodio - Emplear Solución fisiológica (SR).

Soluciones reguladoras - Ver *Soluciones reguladoras* en *Soluciones*.

Sorbitol - Emplear *Sorbitol*.

Sudán III - $\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}$ - (PM: 352,4) - Polvo de color rojo a rojo pardo. Emplear uno de grado apropiado.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Hexano y acetato de etilo (80:20).

Procedimiento - Examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm. Presenta una sola mancha, con trazas de impurezas.

Sudán IV - $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}$ - (PM: 380,4) - Polvo marrón a marrón rojizo.

Valoración - Transferir aproximadamente 25 mg, exactamente pesados, a un matraz aforado de 100 ml. Disolver en cloroformo, completar a volumen con cloroformo y mezclar. Diluir 2,0 ml de la solución clorofórmica resultante a 50,0 ml. Determinar la

absorbancia de esta solución en celdas de 1 cm a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 520 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando cloroformo como blanco. Calcular el porcentaje de *Sudán IV* en la muestra tomada por la fórmula siguiente siguiente:

$$(100A)/(85C)$$

en la cual *A* es la absorbancia a 520 nm y *C* es la concentración de muestra, en g por litro. Contiene no menos de 90 %.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 2 horas: no pierde más de 10 % de su peso.

Sulfamato de Amonio - $\text{NH}_4\text{OSO}_2\text{NH}_2$ - (PM: 114,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfanilamida - $\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ - (PM: 172,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato ácido de potasio - (*Sulfato monopotásico*) - KHSO_4 - (PM: 136,2) - Cristales incoloros, transparentes e higroscópicos. Facilmente soluble en agua proporcionando una solución fuertemente ácida.

Sulfato ácido de sodio - (*Bisulfato de sodio*) - NaHSO_4 - (PM: 120,1) - Muy soluble en agua hirviendo, fácilmente soluble en agua. Se descompone en alcohol dando sulfato de sodio y ácido sulfúrico libre.

Punto de fusión <260> - Aprox. 315 °C.

Sulfato ácido de tetrabutilamonio - $\text{C}_{16}\text{H}_{37}\text{NO}_4\text{S}$ (PM: 339,5) - Polvo cristalino blanco. Soluble en alcohol proporcionando una solución ligeramente turbia, incolora.

Valoración - Disolver aproximadamente 170 mg, exactamente pesados, en 40 ml de agua. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (SV) determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 33,95 mg de $\text{C}_{16}\text{H}_{37}\text{NO}_4\text{S}$. Contiene no menos de 97,0 %.

Intervalo de fusión <260> - Entre 169 y 173 °C.

Sulfato ácido de tetrahexilamonio - $\text{C}_{24}\text{H}_{53}\text{NO}_4\text{S}$ - (PM: 451,8) - Cristales blancos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 100 y 102 °C.

Sulfato cérico - $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ con una cantidad variable de agua - (PM: 332,2 - anhidro) - También puede contener sulfatos de otros elementos asociados de tierras raras. Cristales o polvo cristalino amarillo a amarillo anaranjado. Prácticamente insoluble en agua fría; lentamente soluble en ácidos minerales diluidos fríos, pero más fácilmente soluble cuando se calienta con estos solventes.

Valoración - Transferir 800 mg, exactamente pesados, a un erlenmeyer, agregar 25 ml de agua y 3 ml de ácido sulfúrico y calentar hasta disolver. Enfriar y agregar 60 ml de una mezcla de agua y ácido fosfórico (20:1). Agregar 25 ml de solución de ioduro de potasio (1 en 10), insertar el tapón en el erlenmeyer y dejar reposar durante 15 minutos. Reemplazar el aire sobre la solución por dióxido de carbono y, mientras continúa el flujo de dióxido de carbono, titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 33,22 mg de $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$. Contiene no menos de 80,0 %.

Cloruro (Ensayo para reactivos) - Disolver 1 g en una mezcla de 5 ml de ácido nítrico y 4 ml de agua. Filtrar, si fuera necesario, y diluir con agua a 20 ml. A 10 ml de la dilución, agregar 1 ml de nitrato de plata (SR), dejar reposar durante 10 minutos y filtrar hasta clarificar. A los restantes 10 ml de solución muestra, agregar 1 ml de nitrato de plata (SR): la turbidez producida no excede la de un control preparado mediante el agregado de 0,05 mg de Cl al filtrado obtenido a partir de los primeros 10 ml de solución muestra (0,01 %).

Metales pesados - Calentar 500 mg con una mezcla de 10 ml de agua y 0,5 ml de ácido sulfúrico hasta que se complete la disolución. Enfriar, diluir con agua a 50 ml y burbujear sulfuro de hidrógeno gaseoso a través de la solución hasta que ésta se sature: el precipitado que se forma es blanco o no más oscuro que amarillo pálido.

Hierro - Disolver 100 mg en una mezcla de 5 ml de agua y 2 ml de ácido clorhídrico, calentando, si fuera necesario, y enfriar. Transferir a una probeta con tapón de vidrio, diluir con agua a 25 ml y agregar 5 ml de tiocianato de amonio (SR) y 25 ml de éter. Agitar suave y completamente y dejar que las fases se separen: cualquier color rosado en la capa etérea no es más oscuro que el de un control, preparado en forma similar, conteniendo 0,02 mg de Fe (0,02 %).

Sulfato cérico amónico - (PM: 632,6) - $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 2(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - Cristales amarillos a anaranjado amarillento. Se disuelve lentamente en agua, pero más rápidamente en presencia de ácidos minerales.

Valoración - Pesar exactamente 1 g, disolver en 10 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 10) y agregar 40 ml de agua. Agregar ortofenantrolina (SR) y titular con sulfato ferroso amónico 0,1 N (SV) recientemente estandarizado.

Cada mililitro de sulfato ferroso amónico 0,1 N equivale a 63,26 mg de $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 2(\text{NH}_4)_2 \cdot \text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Contiene no menos de 94 %.

Hierro - Disolver 100 mg en 30 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 10) y agregar peróxido de hidrógeno (SR), gota a gota, hasta que la solución sea incolora. Agregar agua de amoníaco fuerte hasta que el pH esté entre 1 y 3, enfriar a temperatura ambiente, adicionalmente ajustar a pH 3,5 (empleando un electrodo de vidrio) y diluir a 50 ml. A 5 ml de esta solución, agregar 5 ml de agua, mezclar y agregar 6 ml de solución de clorhidrato de hidroxilamina (1 en 10) y 4 ml de una solución acidificada de ortofenantrolina (1 en 1.000): cualquier color rojo producido no es más oscuro que el de un control que contiene 0,1 mg de Fe y los volúmenes de ácido y peróxido de hidrógeno (SR) empleado con la muestra (0,1 %).

Fosfato - Disolver 200 mg en 30 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 10), agregar peróxido de hidrógeno al 30 % hasta que la solución sea incolora y calentar a ebullición para eliminar el exceso de peróxido. Enfriar y diluir a 100 ml. A 5 ml de la solución resultante, agregar 55 ml de agua y ajustar a pH entre 2 y 3 con hidróxido de amonio. [NOTA: ajustar el pH cuidadosamente, ya que la formación de un precipitado permanente dificultará las operaciones subsiguientes. Si se formara un precipitado permanente, descartar la solución y comenzar con una alícuota nueva de la solución muestra.] Agregar 500 mg de molibdato de amonio y ajustar a pH 1,8 (empleando un electrodo de vidrio) con ácido clorhídrico diluido (1 en 10). Calentar la solución a ebullición, enfriar, agregar 10 ml de ácido clorhídrico y diluir a 100 ml. Transferir a una ampolla de decantación, agregar 35 ml de éter, agitar vigorosamente, dejar separar y descartar la fase acuosa. Lavar la fase etérea dos veces agitando con porciones separadas de 10 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 10), descartando siempre la fase acuosa. Agregar 0,20 ml de una solución recientemente preparada de 2 g de cloruro estañoso en 100 ml de ácido clorhídrico, agitar bien y dejar que las fases se separen: el color azul en la fase etérea no es más oscuro que el de un control preparado al agregar el equivalente a 0,01 mg de PO_4 a 5 ml de ácido sulfúrico diluido (3 en 25) y tratados de la misma manera (0,1 %).

Sulfato cúprico - $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 249,7) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato cúprico anhidro - CuSO_4 - (PM: 159,6) - Polvo blanco o blanco grisáceo exento de un tinte azul. Con el agregado de una cantidad pequeña de agua, se torna azul. Soluble en agua. Almacenar en envases de cierre perfecto.

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,02 mg de Cl (0,002 %).

Sustancias no precipitadas por sulfuro de hidrógeno - Determinar según se indica para **Acetato cúprico**: el residuo no pesa más de 6 mg (0,15 %).

Sulfato de adenina - $(\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_5)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 404,4) - Cristales blancos o polvo cristalino. Luego de secar a 110 °C, funde aproximadamente a 200 °C, con descomposición. Poco soluble en agua; menos soluble en alcohol. Soluble en soluciones de hidróxido de sodio. No precipita con solución de iodo (SR) o iodomercuriato de potasio (SR) pero precipita con trinitrofenol (SR).

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 100 mg.

Agua - Secar a 105 °C hasta peso constante: no pierde más de 10,0 % de su peso.

Sulfato de amonio - $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - (PM: 132,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato de brucina - (PM: 1.013,1) - $(\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato de calcio - $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 172,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato de cinc - $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 287,5) - Polvo cristalino blanco o cristales transparentes, fluorescentes. Muy soluble en agua; prácticamente insoluble en alcohol.

Sulfato de dietilfenilendiamina - (*Sulfato de N,N'-dietil-p-fenilendiamina*) - $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ - (PM: 262,3) - Polvo blanco o ligeramente amarillento, soluble en agua. Funde a 185 °C aproximadamente, con descomposición. Almacenar en envases inactínicos.

Sulfato de dihidroquinidina - (PM: 785,0) - $(\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - Polvo cristalino blanco.

Valoración - Disolver aproximadamente 200 mg, exactamente pesados, en 20 ml de anhídrido acético, agregar 4 gotas de *p*-naftolbenceína (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) desde una microbureta de 10 ml hasta punto final verde. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 24,96 mg de $(\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$. Contiene no menos de 99 %.

Sulfato de dihidroquinina - (PM: 785,0) - $(\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - Polvo cristalino blanco.

Valoración - Disolver aproximadamente 200 mg, exactamente pesados, en 20 ml de anhídrido acético, agregar 4 gotas de *p*-naftolbenceína (SR) y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) desde una microbureta de 10 ml hasta punto final verde. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 24,96 mg de $(\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$. Contiene no menos de 99 %.

Sulfato de estricnina - (PM: 857,0) - $(C_{21}H_{22}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 5H_2O$ - Cristales incoloros o blancos, polvo cristalino blanco. Sus soluciones son levorrotatorias. Moderadamente soluble en agua y alcohol; poco soluble en cloroformo; insoluble en éter.

Solubilidad - Una solución de 500 mg en 25 ml de agua es transparente, incolora y se disuelve completamente.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,1 %.

Brucina - A 100 mg agregar 1 ml de ácido nítrico diluido (1 en 2): se puede observar un color amarillo pero no se observa un color pardo rojo o rojizo.

Sulfato de hidracina - $(NH_2)_2 \cdot H_2SO_4$ - (PM: 130,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato de iobenguano - (*Sal de hemisulfato de m-iodobencilguanidina*) - $C_8H_{10}IN_3 \cdot \frac{1}{2}H_2SO_4$ - (PM: 324,1) - Polvo blanco. Fácilmente soluble en metanol.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Alcohol butílico, agua y ácido acético (60:25:15).

Procedimiento - Examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm. No se observa más de una mancha de impurezas de no más de 0,5 %.

Sulfato de litio - $Li_2SO_4 \cdot H_2O$ - (PM: 128,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato de magnesio - $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - (PM: 246,5) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato de magnesio, anhidro - $MgSO_4$ - (PM: 120,4) - El sulfato de magnesio anhidro puede prepararse del siguiente modo: colocar una cantidad apropiada de sulfato de magnesio, preferentemente pulverizado, en un recipiente playo y exponer a una temperatura de aproximadamente 80 °C durante varias horas agitando ocasionalmente. Calentar de 275 a 300°C hasta que el peso sea prácticamente constante. Transferir el producto aún caliente a envases de cierre perfecto, ya que la sal anhidra es muy higroscópica.

Sulfato de manganeso - (*Sulfato de manganeso monohidrato*) - $MnSO_4 \cdot H_2O$ - (PM: 169,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato de p-metilaminofenol - (PM: 344,4) - $(p-CH_3NHC_6H_4OH)_2 \cdot H_2SO_4$ - Cristales pequeños o polvo cristalino blanco o blanco amarillento. Se decolora por exposición al aire. Soluble en agua fría;

fácilmente soluble en agua hirviendo; poco soluble en alcohol; insoluble en éter. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto.

Solubilidad en HCl - A 100 mg agregar 2 ml de ácido clorhídrico: se disuelve rápidamente y completamente.

o-Aminofenol - A la solución del ensayo anterior agregar 1 gota de cloruro férrico (SR): no se produce color pardo rojizo.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - El residuo no pesa más de 2 mg, determinado sobre 2 g (0,1 %).

Cloruro - A una solución de 1 g en 20 ml de agua agregar 1 ml de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata (SR): no se produce más que una ligera opalescencia.

Aptitud para el ensayo de fosfatos - Disolver 2 g en 100 ml de agua. A 10 ml de esta solución agregar 90 ml de agua y 20 g de bisulfito de sodio. Confirmar la aptitud de la solución del reactivo por el siguiente ensayo: agregar 1 ml de la solución del reactivo a cada una de cuatro soluciones que contengan 25 ml de ácido sulfúrico 0,5 N y 1 ml de una solución de 5 g de molibdato de amonio en 100 ml de ácido sulfúrico 1N. Agregar 0,005 mg de fosfato (PO_4) a una de las soluciones, 0,01 mg a la segunda y 0,02 mg a la tercera. Dejar reposar a temperatura ambiente durante 2 horas: las soluciones en los tres tubos presentan diferencias fácilmente perceptibles en color azul que corresponden a las cantidades relativas de fosfato agregado y el que contiene 0,005 mg de fosfato posee un color azul sensiblemente más profundo que el blanco.

Sulfato de níquel - $NiSO_4 \cdot 7H_2O$ - (PM: 280,9) - Polvo cristalino o cristales verdes, fácilmente en agua, poco soluble en alcohol.

Sulfato de potasio - K_2SO_4 - (PM: 174,3) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato de potasio y aluminio - (PM: 474,4) - $AlK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato de sodio - (*Sal de Glauber*) - (PM: 322,2) $Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$ - Cristales incoloros, inodoros o gránulos blancos. Es eflorescente. Funde a 32,5 °C. Fácilmente soluble en agua; soluble en glicerina; insoluble en alcohol. Almacenar en envases bien cerrados, protegidos del calor.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - No más de 1 mg, determinado sobre 10 g (0,01 %).

pH - El pH de una solución de 10 g en 200 ml de agua libre de amoníaco está entre 5,2 y 8,2.

Arsénico (Ensayo para reactivos) - La mancha producida por 3 g no excede la producida por 0,003 mg de As (1 ppm).

Calcio, magnesio y precipitado de R_2O_3 - Disolver 5 g en 75 ml de agua, filtrar y agregar 5 ml de oxalato de amonio (SR), 2 ml de fosfato de amonio (SR) y 10 ml de hidróxido de amonio. Agitar bien y dejar reposar durante toda la noche. Si se forma precipitado, filtrar, lavar con amoniaco (SR) (1 en 4) y someter a ignición: el residuo no pesa más de 1 mg (0,02 %).

Cloruro - Disolver 1 g en 50 ml de agua y filtrar si fuera necesario. A 25 ml de la solución agregar 1 ml de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata (SR): si se produce turbidez no debe exceder la de un control que contenga 0,01 mg de Cl (0,002 %).

Metales pesados (Ensayo para reactivos) - No más de 5 ppm.

Hierro <580> - 1 g disuelto en 47 ml de agua que contenga 2 ml de ácido clorhídrico, no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,001 %).

Compuestos nitrogenados (Ensayo para reactivos) 2 g no presentan más de 0,01 mg de N (5 ppm).

Sulfato de sodio anhidro - Na_2SO_4 - (PM: 142,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Para emplear en análisis de alcaloides por cromatografía de gases y líquidos, ajustar también al siguiente ensayo adicional.

Aptitud para la valoración de alcaloides - Transferir aproximadamente 10 mg de atropina, exactamente pesados, a un matraz aforado de 25 ml, disolver en alcohol y completar a volumen con alcohol. Transferir 3 ml de la solución a cada una de dos ampollas de decantación de 60 ml y agregar a cada una 10 ml de agua, 1 ml de hidróxido de sodio 1 N y 10 ml de cloroformo. Agitar completamente y dejar separar las fases. Filtrar la fase orgánica desde una ampolla de decantación a través de un papel separador de fases, previamente lavado con 5 ml de cloroformo y recolectar el filtrado en un envase apropiado. Agregar 10 ml de cloroformo a la ampolla de decantación, agitar vigorosamente y filtrar la fase orgánica a través del mismo papel separador de fases, recolectando y combinando los filtrados en el mismo envase. Designar los filtrados combinados como *Solución A*. Filtrar la fase orgánica de la segunda ampolla de decantación a través de 30 g del sulfato de sodio anhidro, colocado sobre una torunda de lana de vidrio en un embudo previamente lavado con cloroformo y recolectar el filtrado en un envase apropiado. Agregar 10 ml de cloroformo a la ampolla de decantación, agitar a vigorosamente y filtrar la fase orgánica a través de la misma porción de sulfato de sodio anhidro, recolectando y combinando los dos filtrados en el mismo envase. Designar los filtrados combinados como *Solución B*. Evaporar las dos soluciones al vacío a un volumen de aproximadamente 1 ml. Inyectar un volumen, exactamente medido, de *Solución A*

en un cromatógrafo de gases apropiado y registrar la altura del pico por duplicado. De manera similar, determinar la altura del picos de *Solución B* por duplicado. El valor promedio obtenido para la *Solución B* está dentro de 5,0 % del valor obtenido para la *Solución A*.

El cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) está equipado con un detector y una columna de vidrio de 1,2 m \times 4 mm con 3 % de fase estacionaria constituida por 50 % fenil silicona y 50 % de metilpolisiloxano sobre un soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C. [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Después de curada y acondicionada, mantener la columna, el inyector y el detector a aproximadamente 210, 225 y 240 °C, respectivamente. Se emplea helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 60 ml por minuto.

Sulfato de sodio decahidratado - Emplear Sulfato de sodio.

Sulfato de tetrabutil amonio hidrogenado - (*Sulfato ácido de tetrabutil monio*) - $C_{16}H_{37}NO_4S$ - (PM: 339,5) - Polvo blanco cristalino. Soluble n alcohol con la que produce una solución incolora levemente turbia.

Intervalo e fusión <260> - Entre 69 y 173 °C.

Valoración - Disolver aproximadamente 170 mg de sulfato de tetrabutil amonio hidrogenada en 40 ml de agua. Titular con hidróxido e sodio 0,1 N (SV), determinar el punto final potenciométricamente. Realizar una titulación con un blanco y hacer las correcciones necesarias (ver 780. *Volumetría*). Cada ml de hidróxido de sodio 0,1 N equivale a 33,95 mg de $C_{16}H_{37}NO_4S$. No debe contener menos de 97,0 %.

Sulfato de vanadilo - $VOSO_4 \cdot xH_2O$ - (PM: 163,01 - anhidro) - Cristales azules, higroscópicos. Lenta e incompleta solubilidad en agua.

Valoración - Pesar exactamente 400 mg de muestra seca obtenida en el ensayo para *Agua* y transferir con 15 a 20 ml de agua a un vaso de precipitados. Agregar 3 ml de ácido sulfúrico, cubrir el vaso de precipitados con un vidrio de reloj y calentar en un baño de vapor hasta que se disuelva completamente. Enfriar, diluir con 125 ml de agua y titular con permanganato de potasio 0,1 N (SV) hasta la producción de un color rosado que persiste durante 1 minuto. Cada mililitro de permanganato de potasio 0,1 N equivale a 16,30 mg de $VOSO_4$. Contiene no menos de 97 %.

Agua - Secar aproximadamente 1 g, exactamente pesado, a 220 °C hasta peso constante: no pierde más de 50,0 % de su peso.

Vanadio pentavalente - Calentar 1 g, exactamente pesado, con 50 ml de agua y 5 ml de ácido clorhídrico en un erlenmeyer hasta disolver. Enfriar, agregar 2 g de ioduro de potasio, insertar el tapón y dejar reposar durante 30 minutos. Agregar 50 ml de agua y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de tiosulfato 0,1 N equivale a 5,095 mg de vanadio (V). Contiene no más de 0,5 %, calculado sobre la sustancia seca.

Sustancias no precipitadas por amoníaco - Disolver 1,0 g calentando con 20 ml de agua y 2 ml de ácido clorhídrico. Diluir con agua a aproximadamente 75 ml y neutralizar al papel de tornasol con amoníaco (SR). Transferir la solución a una probeta de 100 ml, agregar lentamente 5 ml de amoníaco (SR) y agua suficiente hasta la marca de 100 ml y dejar reposar de la noche a la mañana. Decantar 50 ml de la solución sobrenadante a través de un filtro, agregar 5 gotas de ácido sulfúrico, evaporar hasta sequedad y someter a ignición: el residuo no pesa más de 10 mg (2,0 %).

Sulfato férrico - $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ - Polvo blanco grisáceo higroscópico o gránulos de color marrón rojizo, lentamente soluble en agua.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 700 mg y disolver en una mezcla de 50 ml de agua y 3 ml de ácido clorhídrico en un erlenmeyer con tapón de vidrio. Agregar 3 g de ioduro de potasio y dejar reposar en la oscuridad durante 30 minutos. Diluir con 100 ml de agua y titular con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 5,585 mg de Fe. Contiene no menos de 21,0 % y no más de 23,0 %.

Materia insoluble (Ensayo para reactivos) - 10 g disueltos en una mezcla de 100 ml de agua y 5 ml de ácido sulfúrico, no presentan más de 2 mg de materia insoluble (0,02 %).

Cloruro - Disolver 1 g calentando con una mezcla de 10 ml de agua y 1 ml de ácido nítrico, agregar 4 ml de ácido nítrico adicional y diluir con agua a 50 ml. A 25 ml agregar 1 ml de ácido fosfórico y 1 ml de nitrato de plata (SR). Si se produce turbidez no excede la producida en un control que contiene 0,01 mg de ion cloruro (Cl), 1 ml de ácido nítrico, 1 ml de ácido fosfórico y 1 ml de nitrato de plata (SR) (0,002 %).

Hierro ferroso - Disolver 4 g calentando con 50 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 10), enfriar y titular con permanganato de potasio 0,1 N: no se

requiere más de 0,16 ml para producir un color rosado permanente (0,02 % como Fe^{+2}).

[NOTA: ya que los reactivos empleados en los ensayos para *Cobre* y *Cinc* pueden contener cantidades excesivas de cobre y cinc, en primer lugar deben purificarse por extracción con *Solución de ditizona para extracción* (ver 600. *Límite de plomo*).]

Cobre - Disolver 1,2 g en 100 ml de agua. A 10 ml agregar 50 ml de una solución que contiene 5 g de tartrato de amonio y 5 ml de hidróxido de amonio. Agregar 10 ml de *Solución de ditizona estándar* (ver 600. *Límite de plomo*), agitar durante 2 minutos, extraer la fase de ditizona y comparar el color rosado con el de un control que contiene 6 μg de ion cobre (Cu) tratado de la misma manera. Si el color en la solución muestra es menos intenso que el de un control, la muestra contiene menos del límite de *Cobre* y *Cinc*. Si el color en la solución muestra es más intenso que el de un control, agregar 15 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 250) y agitar durante 2 minutos. Extraer la solución de ditizona y agitar con una segunda porción de 15 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 250) durante 2 minutos. Extraer la ditizona, combinar los dos extractos ácidos y reservar para el ensayo de *Cinc*. Si se produce un color rosado en la solución de ditizona no es más oscuro que el de la solución control tratada de la misma manera (0,005 %).

Cinc - A los extractos ácidos combinados retenidos del ensayo de *Cobre* agregar acetato de sodio 0,5 M para llevar a pH entre 5,0 y 5,5 y luego agregar 1 ml de tiosulfato de sodio 0,1 N. Agregar 10 ml de *Solución de ditizona estándar* (ver 600. *Límite de plomo*), agitar durante 2 minutos y dejar que las fases se separen. Drenar la ditizona y descartar la fase acuosa. Si se produce color rosado no es mayor que el de un control preparado agregando 0,006 mg de cinc (Zn) a los extractos ácidos combinados del control empleado en el ensayo para *Cobre* (0,005 %).

Nitrato - Disolver 10 g en 100 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 100), calentar a ebullición y verter, lentamente, en una mezcla de 140 ml de agua y 50 ml de agua de amoníaco fuerte. Filtrar a través de un filtro plegado mientras todavía está caliente, lavar con agua caliente hasta que el volumen de filtrado sea 300 ml, mezclar y enfriar. A 15 ml de esta solución agregar 1 ml de solución de cloruro de sodio (1 en 200), 0,10 ml de índigo carmín (SR) y 15 ml de ácido sulfúrico. El color azul no desaparece completamente después de 5 minutos (0,01 %).

Sustancias no precipitadas por amoníaco - Evaporar hasta sequedad 30 ml del filtrado obtenido en el ensayo para *Nitrato* e incinerar suavemente: el peso del residuo no excede 1 mg (0,10 %).

Sulfato férrico amónico - $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (PM: 482,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato ferroso - $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 278,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato ferroso amónico - $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 392,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sulfato mercúrico - HgSO_4 - (PM: 296,7) - Polvo fino, blanco, pesado. Es inodoro. Soluble en solución de cloruro de sodio (1 en 5).

Valoración - Pesar exactamente 500 mg y disolver en 50 ml de ácido nítrico diluido (1 en 2). Agregar 1 ml de solución de nitrato férrico (1 en 10) y titular con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Cada mililitro de tiocianato de amonio 0,1 N equivale a 10,03 mg de Hg. Contiene entre 67 y 67,5 % de Hg.

Residuo de ignición - Someter a ignición 10 g a una velocidad tal que se requiere de 1 a 2 horas para volatilizar la muestra y calcinar a 800 ± 25 °C durante 15 minutos: el residuo no pesa más de 1 mg (0,01 %).

Cloruro - Mezclar 1 g con 50 ml de agua, agregar 1 ml de ácido fórmico y agregar solución de hidróxido de sodio (1 en 10) gota a gota hasta que se forme una pequeña cantidad de precipitado. Calentar a reflujo la suspensión hasta que todo el mercurio se reduzca a metal y la solución sea transparente. Enfriar, filtrar a través de un papel libre de cloruro, lavar con dos porciones de 15 ml de agua y diluir con agua a 90 ml. A 30 ml agregar 1 ml de ácido nítrico y 1 ml de nitrato de plata (SR), mezclar y dejar reposar durante 5 minutos: si se produce turbidez no excede la de un control preparado agregando 0,01 mg de Cl a 30 ml de agua tratado de la misma manera (0,003 %).

Hierro <580> - Al *Residuo de ignición* agregar 3 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 2), cubrir con un vidrio de reloj y digerir en un baño de vapor durante 20 minutos. Retirar el vidrio de reloj y evaporar hasta sequedad. Absorber el residuo en una mezcla de 1 ml de ácido clorhídrico diluido (1 en 2) y 30 ml de agua, filtrar si fuera necesario y diluir con agua a 100 ml. A 10 ml de la solución agregar 2 ml de ácido clorhídrico y diluir con agua a 47 ml: la solución no presenta más de 0,01 mg de Fe (0,001 %).

Sales mercuriosas - Transferir 5,0 g a un erlenmeyer con tapón de vidrio, agregar 100 ml de solución de yoduro de potasio (15 en 100), 5,0 ml de iodo 0,1 N (SV) y 3 ml de ácido clorhídrico 1 N y dejar reposar en la oscuridad, con agitación frecuente, durante 1 hora. Titular el iodo en exceso con tiosulfato sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final: no se requiere más de 0,38 ml

de iodo 0,1 N, haciendo la corrección para el iodo consumido en un blanco (0,15 %).

Nitrato - Dispersar 1 g en 9 ml de agua, agregar 1 ml de solución de cloruro de sodio (1 en 200), mezclar y agregar 0,1 ml de índigo carmín (SR) y 10 ml de ácido sulfúrico: el color azul de la solución clara no desaparece totalmente dentro de los 5 minutos (0,005 %).

Sulfito de sodio - Emplear Sulfito de sodio, anhidro.

Sulfito de sodio anhidro - (*Sulfito de sodio desecado*) - Na_2SO_3 - (PM: 126,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

p-Sulfofenilazocromotropato sódico - (*Sal trisódica del ácido 4,5-dihidroxi-3-(p-sulfofenilazo)-2,7-naftalendisulfónico*) - $\text{C}_{16}\text{H}_9\text{N}_2\text{Na}_3\text{O}_{11}\text{S}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 624,5) - Polvo rojo brillante. Muy soluble en agua; insoluble en alcohol. Se combina con oxiclورو de circonio para formar una laca de circonio rosada soluble.

Sulfuro de hidrógeno - H_2S - (PM: 34,1) - Gas incoloro, venenoso, más pesado que el aire. Soluble en agua. Se genera tratando sulfuro ferroso con ácido clorhídrico diluido o sulfúrico diluido. Pueden emplearse otros sulfuros que producen sulfuro de hidrógeno con ácidos diluidos. Está también disponible en forma de gas comprimido en cilindros.

Sulfuro de sodio - $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 240,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Sustrato cromogénico para el ensayo de anti-factor X_a - Reactivo que consta de tripéptidos o tetrapéptidos sintéticos acoplados a un cromóforo. Tiene un grupo arginina en la porción aminoácido terminal, el cual le confiere su actividad específica, y tiene un extremo *p*-nitroanilina covalentemente unido al grupo carbonilo de la arginina. El péptido sintético imita la secuencia del péptido del sitio de acción del sustrato natural específico para el factor activado de coagulación a medir - (PM está entre: 600 y 750). El sustrato completo es incoloro y el factor de coagulación a medir cataliza la división del cromóforo (*p*-nitroanilina) del péptido. La cantidad liberada se mide directamente por el color del cromóforo. El sustrato, empleado para medir la actividad del *Anti-factor X_a* , es soluble en grado necesario y es reactivo a una concentración, basada en el peso molecular declarado en el rótulo, de 2,5 a 3,0 mM. Diferentes preparaciones de sustrato cromogénico difieren en sensibilidad y puede ser necesario determinar el periodo de incubación óptimo.

T

Tartrato de sodio - $\text{Na}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 230,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Tartrato de sodio y potasio - $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 282,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Telurito de potasio - (*Telurato de potasio IV*) - K_2TeO_3 - (PM: 253,8) - Polvo blanco, granular. Soluble en agua. Su solución es alcalina.

Valoración - Pesar exactamente 120 mg, transferir a un vaso de precipitados y disolver en una mezcla de 10 ml de ácido nítrico, 10 ml de ácido sulfúrico y 25 ml de agua. Calentar a ebullición, hasta que se generen gases copiosos de trióxido de azufre. Enfriar, agregar con cuidado 100 ml de agua, calentar a ebullición, agregar 6 g de fluoruro de sodio. Titular la solución caliente con permanganato de potasio 0,1 N (SV). Cada mililitro de permanganato de potasio 0,1N equivale a 12,69 mg de K_2TeO_3 . Contiene no menos de 98 %

Cloruro (Ensayo para reactivos) - 1 g no presenta más de 0,1 mg de Cl (0,01 %).

Teobromina - $\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_2$ - (PM: 180,2) - Sólido cristalino blanco. Muy poco soluble en agua y alcohol; casi insoluble en éter y cloroformo.

Valoración - Disolver aproximadamente 34 mg, exactamente pesados, en 50 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 18,02 mg de $\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_2$. Contiene no menos de 95 %.

Tetrabromofenoltaleinato de etilo - (PM:662,0) - $\text{C}_{22}\text{H}_{14}\text{Br}_4\text{O}_4$ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Tetracloruro de carbono - CCl_4 - (PM: 153,8) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Tetracloruro de titanio - TiCl_4 - (PM: 189,7) - Líquido transparente, incoloro. Desprende gases al aire. *Precaución* - *Reacciona violentamente con agua.*

Valoración - Pesar exactamente 750 mg en 100 ml de ácido sulfúrico 2 N contenidos en una bureta gravimétrica Smith. Verter la solución a través de una columna de reducción de cinc-mercurio en 50 ml de sulfato férrico amónico 0,1 N (SV). Eluir con 100 ml de ácido sulfúrico 2 N y 100 ml de agua. Agregar 10 ml de ácido fosfórico y titular con permanganato de potasio

0,1 N (SV). Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de permanganato de potasio 0,1 N equivale a 18,97 mg de TiCl_4 . Contiene no menos de 99,5 %.

Intervalo de ebullición (Ensayo para Reactivos) - Entre 135 y 140 °C.

Tetracosano - $\text{C}_{24}\text{H}_{50}$ - (PM: 338,7) - Polvo blanco.

Intervalo de fusión <260> - Entre 51 y 53 °C.

Tetradecano - $\text{C}_{14}\text{H}_{30}$ - (PM: 198,4) - Líquido transparente, incoloro.

Valoración - Analizar por cromatografía gas-líquido empleando un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 2,4 m × 3 mm con una fase estacionaria constituida por un compuesto de polietilenglicol (p.m.p aproximadamente 15.000) [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido], sobre un soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C. [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener la columna, el inyector y el detector a aproximadamente 250, 200 y 280 °C, respectivamente. Se emplea helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 27,5 ml por minuto. Presenta una pureza no menor de 98 %.

Intervalo de fusión <260> - *Método II.* Entre 4 y 8 °C, con un intervalo de fusión no mayor de 2 °C.

Índice de refracción - Entre 1,4280 y 1,4300 a 20 °C.

Tetraetilenglicol - $\text{C}_8\text{H}_{18}\text{O}_5$ - (PM: 194,2) - Líquido casi incoloro. Índice de refracción: aproximadamente 1,46.

Valoración - Cuando se analiza por cromatografía de gas-líquido, empleando un cromatógrafo de gases y condiciones apropiadas, presenta una pureza no menor de 90 %.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 177 y 187 °C, a una presión de 9 mm Hg.

Tetraetilenpentamina - $\text{C}_8\text{H}_{23}\text{N}_5$ - (PM: 189,3) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y

una columna capilar de 30 m × 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μm de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 280 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de C₈H₂₃N₅ no es menor de 30 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,503 y 1,507, a 20 °C.

Tetrafenilborato de sodio - NaB(C₆H₅)₄ - (PM: 342,2) - Polvo blanco a ligeramente amarillo, voluminoso; fácilmente soluble en acetona y agua.

Tetrafluoroborato de p-nitrobencenodiazonio - NO₂C₆H₄N₂BF₄ - (PM: 236,9) - Cristales color amarillo oro. Soluble en acetonitrilo. *Precaución - Sensible a los golpes; mantener refrigerado.*

Valoración - Transferir aproximadamente 30 mg, exactamente pesados, a un matraz aforado de 100 ml de vidrio inactínico. Disolver en ácido clorhídrico 0,01 N, completar a volumen con ácido clorhídrico 0,01 N y mezclar. Empleando material de vidrio inactínico, diluir 2,0 ml de la solución resultante con metanol de grado espectrofotométrico a 50,0 ml. Determinar la absorbancia de esta solución en una celda de 1 cm aproximadamente a 255 nm, empleando metanol como blanco. Calcular la absortividad de la solución dividiendo la absorbancia medida por la concentración en g por ml. Calcular el título por la fórmula siguiente:

$$100a/59,4$$

en la cual *a* es la absortividad de la solución. Contiene no menos de 95,0 %.

Tetrahidrofurano - C₄H₈O - (PM: 72,1) - Líquido incoloro, de olor acre característico. Miscible con agua y solventes orgánicos comunes. Cuando se mezcla con agua, genera calor y se contrae el volumen; cuando se mezcla con cloroformo, genera considerable calor. Cualquier conservante apropiado, que no exceda 0,1 %, agregado para impedir formación de peróxidos, debe declararse en el rótulo. Conservar en envases inactínicos totalmente llenos.

Densidad relativa <160> - Entre 0,884 y 0,886.

Intervalo de destilación <240> - Método II. Entre 65 y 66 °C.

Acidez - Mezclar 5,0 ml con 10 ml de agua y 1 gota de rojo de metilo (SR): cualquier color rosado producido cambia a amarillo por el agregado de no más de 0,25 ml de hidróxido de sodio 0,020 N.

Agua <120> - *Titulación volumétrica directa.* No más de 0,1 %.

Residuo de evaporación - Evaporar 10 ml (12 g) en un baño de vapor hasta sequedad y secar el residuo a 105 °C durante 1 hora: si contiene un conservante, el peso del residuo no es mayor de 2 mg. Si no se declara ningún conservante en el rótulo, el peso del residuo no es mayor de 1 mg.

Tetrahidrofurano libre de estabilizador - Emplear uno de grado apropiado.

1,2,3,4-Tetrahidronaftaleno - C₁₀H₁₂ - (PM: 132,2) - Líquido incoloro.

Índice de refracción <230> - 1,5401, a 20 °C.

Tetrakis [3-(3,5-di-*ter*-butil-4-hidroxifenil)propionato] de pentaeritritilo - C₇₃H₁₀₈O₁₂ - (PM: 1.178) - Polvo cristalino blanco a ligeramente amarillento. Prácticamente insoluble en agua; muy soluble en acetona; soluble en metanol; poco soluble en hexano.

Intervalo de fusión - Entre 110 a 125 °C.

Forma α - 120 a 125 °C.

Forma β - 110 a 115 °C.

1,1,3,3-Tetrametilbutilamina - (*ter*-Octilamina) - (PM: 129,3) - (CH₃)₃CCH₂C(CH₃)₂NH₂ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

4,4'-Tetrametildiaminodifenilmetano - [*4,4'*-Metilenbis(*N,N*-dimetilnilina)] - (PM: 254,4) [(CH₃)₂NC₆H₄]₂CH₂ - Cristales casi blancos.

Intervalo de fusión <260> - Entre 87 y 90 °C.

Tetrametiletilendiamina - (PM: 116,2) - (CH₃)₂NCH₂CH₂N(CH₃)₂ - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Tetrametilsilano - (CH₃)₄Si - (PM: 88,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Tetróxido de osmio - (*Ácido ósmico; Anhídrido perósmico*) - OsO₄ - (PM: 254,2) - Gránulos cristalinos o cristales incoloros o algo amarillos, higroscópicos. De olor pungente. Se descompone a la luz. Lentamente soluble en agua; soluble en alcohol y éter, con descomposición. Se ablanda aproximadamente a 35 °C, funde entre 40 y 42 °C y el punto de ebullición es aproximadamente 130 °C.

Precaución - Los vapores de Tetróxido de osmio son venenosos y altamente irritantes para los ojos y las membranas respiratorias.

Solubilidad - Disolver 200 mg en 1 ml de tetracloruro de carbono: se obtiene una solución transparente y apenas amarilla y no se observa residuo insoluble apreciable.

Materia no volátil - Evaporar la solución remanente del ensayo para *Solubilidad* en un baño de vapor en una campana extractora bien ventilada

hasta sequedad y secar a 105 °C durante 1 hora: el residuo no pesa más de 0,4 mg (0,2 %).

Metales pesados - Al residuo del ensayo para *Materia no volátil* agregar 2 ml de ácido clorhídrico y evaporar la solución hasta sequedad. Tomar el residuo con unos ml de agua, diluir con agua a 25 ml y agregar 10 ml de sulfuro de hidrógeno (SR): cualquier color pardo producido no es más oscuro que el de un control que contiene 0,01 mg de Pb (0,005 %).

Tierra cromatográfica silanizada lavada con ácido y base - Emplear uno de grado apropiado.

Tierra de diatomeas calcinada - Forma de sílice (SiO₂) que consiste en frústulas y fragmentos fundidos de diatomeas. Es un polvo amorfo, fino, claro rosado o blanco. Insoluble en agua, ácidos y en soluciones diluidas de hidróxidos alcalinos.

Pérdida por ignición - Pesar exactamente 4 g y someter a ignición hasta peso constante: no pierde más de 10,0 % de su peso.

Impurezas orgánicas - No se oscurece apreciablemente con la calcinación.

Pérdida por secado <680> - Secar a 110 °C durante 2 horas: no pierde más de 2,0 % de su peso.

Tierra de diatomeas calcinada y fundida - Emplear uno de grado apropiado.

Tierra de diatomeas silanizada - Emplear uno de grado apropiado.

Tierra de Fuller para cromatografía - (*Muy fina y moderadamente gruesa*) - Polvo o gránulos de color gris o blanco grisáceo constituido principalmente por silicato hidratado de aluminio-magnesio.

Determinación del tamaño de partícula - (ver 290. *Distribución del tamaño de partícula en polvos*).

Materia soluble - 20 g, tratados con 50 ml de agua fría y filtrados, producen no más de 60 mg de residuo al evaporar el filtrado (0,3 %). Una segunda porción de 20 g, tratada con 50 ml de alcohol frío y filtrada, produce no más de 14 mg al evaporar el filtrado (0,07%).

Pérdida por secado <680> - Secarlo a 105 °C durante 6 horas: pierde entre 7,0 y 10,0 % de su peso.

[NOTA: ajustar el contenido de agua, si fuera necesario, secando al vacío a temperatura ambiente, restaurando el agua requerida y equilibrando mediante agitación durante 2 horas.]

Tierra sílicea para cromatografía - Para cromatografía de gases, emplear un grado especialmente preparado que reúna la siguiente descripción general: tierra sílicea purificada de tamaño de partí-

cula apropiado que haya sido lavada con ácido y/o base. Puede ser silanizada o no.

Para cromatografía de partición en columna es esencial que el material esté exento de sustancias interferentes. Si se conoce o se piensa que existen interferencias, purificar el material del siguiente modo: colocar una torunda de lana de vidrio en la base de una columna cromatográfica que posea un diámetro de 100 mm o mayor y agregar la *Tierra sílicea purificada* a una altura igual a 5 veces el diámetro de la columna. Agregar un volumen de ácido clorhídrico equivalente a un tercio del volumen de la tierra sílicea y dejar percolar el ácido a través de la columna. Lavar la columna con metanol, emplear volúmenes pequeños al principio para lavar las paredes de la columna y continuar lavando con metanol hasta que el último lavado sea neutro al papel de tornasol humedecido. Extruir la columna lavada en un cristallizador, calentar en un baño de vapor para remover el exceso de metanol y secar a 105 °C hasta que el material se reduzca a polvo y esté exento de trazas de metanol. Almacenar el material seco en envases bien cerrados.

Tierra sílicea silanizada para cromatografía - Transferir aproximadamente 450 g de tierra sílicea purificada a un cristallizador de vidrio abierto y colocarlo en un desecador al vacío que contenga 30 ml de un silanizante apropiado, por ej., una mezcla de dimetildiclorosilano y trimetilclorosilano (1:1) o una mezcla de dimetildiclorosilano y metiltriclorosilano (2:1). Aplicar vacío intermitentemente durante varias horas, hasta que no quede silano líquido. Suspender la tierra sílicea purificada tratada en agua y agitar suavemente para dejar decantar cualquier partícula no recubierta. Recolectar el material silanizado de la superficie, lavar en un embudo de vidrio sinterizado con metanol caliente hasta que el filtrado no sea ácido y secar a 110 °C.

Timol - C₆H₃[CH₃][OH][CH(CH₃)₂]_{1,3,4} - (PM: 150,2) - Cristales incoloros, a menudo grandes o polvo blanco, cristalino, que posee un olor aromático. Es afectado por la luz. Tiene mayor densidad que el agua, pero cuando se licúa por fusión es menos denso que el agua. Sus soluciones alcohólicas son neutras al tornasol. Muy poco soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol, cloroformo, éter y aceite de oliva. Soluble en ácido acético glacial y en aceites fijos o volátiles. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto.

Intervalo de fusión <260> - Entre 48 y 51 °C, pero cuando se funde permanece líquido a una temperatura considerablemente inferior.

Materia no volátil - Volatilizar 2 g en un baño de vapor y secar a 105 °C hasta peso constante: el residuo no pesa más de 1 mg (0,05 %).

Tioacetamida - C_2H_5NS - (PM: 75,1) - Emplear uno de grado apropiado.

Tiocianato de amonio - NH_4SCN - (PM: 76,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Tiocianato de potasio - $KSCN$ - (PM: 97,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Tiocianato mercúrico - $Hg(SCN)_2$ - (PM: 316,8) - Polvo cristalino blanco. Muy poco soluble en agua; soluble en soluciones de cloruro de sodio; poco soluble en alcohol y éter.

2,2'-Tiodietanol - $(HOCH_2CH_2)_2S$ - (PM: 122,2) - Líquido amarillo pálido a incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de vidrio de 1,83 m \times 4 mm con 10 % de fase estacionaria constituida por un compuesto de polietilenglicol TPA (polietilenglicol de alto peso molecular y un diepóxido que se esterifica con ácido tereftálico); sobre un soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener la columna, el inyector y el detector a aproximadamente 200, 250 y 310 °C, respectivamente. Contiene no menos de 98 % de $C_4H_{10}O_2S$.

Índice de refracción - Entre 1,4250 y 1,4270, a 20 °C.

3,3'-tiodipropionato de didodecilo - $C_{30}H_{58}O_4S$ - (PM: 514,8) - Polvo cristalino blanco. Prácticamente insoluble en agua; fácilmente soluble en acetona y éter de petróleo; poco soluble en alcohol. Punto de fusión: aproximadamente a 39 °C.

3,3'-tiodipropionato de dioctadecilo - $C_{42}H_{82}O_4S$ - (PM: 683) - Polvo cristalino blanco. Prácticamente insoluble en agua; fácilmente soluble en cloruro de metileno; soluble en acetona, alcohol y éter de petróleo. Intervalo de fusión: entre 58 y 67 °C.

Tioglicolato de sodio - $HSCH_2COONa$ - (PM: 114,1) - Polvo cristalino blanco, de olor leve característico. Muy soluble en agua; poco soluble en alcohol. Es higroscópico, se oxida al aire. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto. No debe emplearse si presenta color amarillo pálido o más oscuro.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 250 mg y disolver en 50 ml de agua libre de oxígeno.

no. Agregar 5 ml de ácido clorhídrico diluido, calentar a ebullición durante 2 minutos, enfriar y titular la solución con iodo 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Cada mililitro de iodo 0,1 N equivale a 11,41 mg de HSC_2COONa . Contiene no menos de 75 %.

Materia insoluble - Una solución de 1 g en 10 ml de agua es transparente y la disolución es prácticamente completa.

Sulfuro - Disolver 500 mg en 10 ml de agua en un matraz apropiado, agregar 2 ml de ácido clorhídrico, luego colocar una tira de papel de filtro, humedecido en acetato de plomo (SR), sobre la boca del matraz y llevar a ebullición la solución: no se oscurece el papel de acetato de plomo.

Tiosulfato de sodio - $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ - (PM: 248,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Tiourea - $(NH_2)_2CS$ - (PM: 76,1) - Cristales blancos, inodoros o polvo blanco, cristalino. Soluble en agua y alcohol.

Valoración - Transferir 1 g, exactamente pesado, a un matraz aforado de 250 ml, disolver en 50 ml de agua y completar a volumen con agua. Transferir 20 ml de la solución bien mezclada a un matraz apropiado y agregar 25,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV) y 10 ml de amoníaco (SR). Agitar vigorosamente durante 2 minutos, calentar a ebullición y enfriar. Agregar 60 ml de ácido nítrico diluido, agitar vigorosamente, filtrar y lavar el residuo con agua. Agregar 2 ml de sulfato férrico amónico (SR) al filtrado y lavados combinados y titular con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Cada mililitro de nitrato de plata 0,1 N equivale a 3,806 mg de $(NH_2)_2CS$. Contiene no menos de 99 %.

Solubilidad - Una solución de 1 g en 20 ml de agua es transparente e incolora y se disuelve completamente.

Intervalo de fusión <260> - *Método I*. Entre 176 y 182 °C.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 2 horas: no pierde más de 0,5 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Someter a ignición 1 g con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 1,5 mg (0,15 %).

Sensibilidad - Disolver 280 mg de subnitrato de bismuto en 12 ml de ácido nítrico y diluir con agua a 200 ml. Diluir 1 ml de esta solución con agua a 100 ml y agregar a 10 ml de la dilución 1 ml de solución muestra (1 en 5): se produce inmediatamente un color amarillo característico.

L-Tirosina - $C_9H_{11}NO_3$ (PM: 181,2) - Polvo cristalino blanco o casi blanco, cristales blancos o incoloros. Prácticamente insoluble en acetona y etanol; ligeramente soluble en agua, fácilmente

soluble en ácido clorhídrico diluido y en soluciones de hidróxidos alcalinos.

L-Tiroxina sódica - Emplear *Levotiroxina sódica*.

Titanio - Ti - (PA: 47,88) - Contiene no menos de 99,0 % de Ti. Metal en polvo, hilo delgado (diámetro no superior a 0,5 mm) o en esponja. Punto de fusión: aproximadamente a 1668 °C. Densidad: aproximadamente 4,507 g por cm³.

o-Tolidina - (4, 4'-Diamino-3, 3'-dimetilbifenil) - (NH₂)(CH₃)C₆H₃ . C₆H₃(CH₃)(NH₂)-4,3,3N,4N - (PM: 212,3) - Cristales o polvo cristalino blanco a rojizo. Poco soluble en agua; soluble en alcohol, éter y en ácidos diluidos. Conservar en envases inactivos de cierre perfecto.

Precaución - Evitar el contacto con o-tolidina y mezclas que contengan o-tolidina y realizar todos los ensayos bajo campana extractora bien ventilada.

Intervalo de fusión <260> - Entre 129 y 131 °C.

Tolualdehído - (*o-Tolualdehído*) - C₈H₈O - (PM: 120,2) - Emplear uno de grado apropiado.

p-Tolualdehído - C₈H₈O - (PM: 120,2) - Líquido incoloro a amarillo claro.

Valoración - Analizar por cromatografía de gas-líquido empleando un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,8 m × 3 mm con 5 % de fase estacionaria constituida por poliéster de succinato de dietilenglicol, sobre un soporte constituido por tierra silíceo para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na₂CO₃ y calcinada a 900 °C. [NOTA: la tierra silíceo se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el detector, la columna y el inyector a aproximadamente 125, 125 y 205 °C, respectivamente. Se emplea nitrógeno como gas transportador con un caudal de aproximadamente 12 ml por minuto. La muestra es una solución al 5 % en disulfuro de carbono. Presenta una pureza no menor a 98 %.

Índice de refracción <230> - Entre 1,544 y 1,546, a 20 °C.

Tolueno - C₆H₅CH₃ - (PM: 92,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Toluensulfonamida - (*4-metilbencenosulfonamida; p-toluensulfonamida*) - C₇H₉NO₂S - (PM: 171,2) - Polvo blanco cristalino. Soluble en alcohol y soluciones de hidróxidos alcalinos; muy poco soluble en agua y éter.

Punto de fusión - Aprox.136 °C.

o-Toluensulfonamida - (*2-metilbencenosulfamida*) - C₇H₉NO₂S - (PM: 171,2) - Polvo blanco cristalino. Soluble en alcohol y soluciones de hidróxidos alcalinos; muy poco soluble en agua y éter.

Punto de fusión - Aprox.156 °C.

p-Toluensulfonamida - Ver Toluensulfonamida.

o-Toluidina - (*2-Aminotolueno; 2-Metilanilina*) - C₆H₄(CH₃)(NH₂)-1,2 - (PM: 107,2) - Líquido amarillo claro que se transforma en rojizo pardo al exponerlo al aire y la luz. Poco soluble en agua; soluble en alcohol, éter y en ácidos diluidos. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto.

Densidad relativa <160> - Aproximadamente 1,008, a 20 °C.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 200 y 202 °C.

p-Toluidina - C₇H₉N - (PM: 107,2) - Cristales o escamas blancas a tostadas. Fácilmente soluble en alcohol, acetona, metanol y en ácidos diluidos; poco soluble en agua.

Valoración - Disolver 400 mg, exactamente pesados, en 100 ml de ácido acético glacial y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 10,72 mg de CH₃C₆H₄NH₂. Contiene no menos de 98 %, calculado sobre la sustancia seca.

Pérdida por secado - Pesar exactamente alrededor de 1 g y secar a 30 °C hasta peso constante: no pierde más de 2 % de su peso.

Tornasol - Un pigmento azul obtenido a partir de diversas especies de *Rocella decandolle*, *Lecanora acharius* u otros líquenes (Fam. Parmeliaceae).

Descripción - Cubos, masas, fragmentos o gránulos, de color azul índigo o violeta profundo. Tiene un olor combinado de índigo y violetas y colorea la saliva de color azul profundo. Las sustancias indicadoras que contiene son solubles en agua y menos solubles o insolubles en alcohol.

Ceniza - Produce no más de 60,0 % de ceniza.

n-Triacontano - C₃₀H₆₂ - (PM: 422,8) - Emplear uno de grado apropiado.

2,4,6-Triamino-5-nitrosopirimidina - C₄H₆N₆O - (PM: 154,1) - Polvo rosado.

Valoración - Disolver aproximadamente 34 mg, exactamente pesados, en 50 ml de ácido acético glacial. Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV),

determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 15,41 mg de $C_4H_6N_6O$. Contiene no menos de 97 %.

Tributirina - (*Tributirato de glicerilo*) - $C_{15}H_{26}O_6$ - (PM: 302,4) - Líquido incoloro, aceitoso. Insoluble en agua; muy soluble en alcohol y éter.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,8 m \times 3 mm con una fase estacionaria constituida por poliéster de succinato de dietilenglicol, sobre un soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C. [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 270 y 300 °C, respectivamente. Se emplea nitrógeno como gas transportador. El área del pico de tributirina no es menor de 98 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,4345 y 1,4365, a 20 °C.

Contenido de ácido - Transferir 1,0 g, exactamente pesado, a un vaso de precipitados, agregar 75 ml de metanol y disolver por agitación. Cuando la disolución es completa, agregar 25 ml de agua y titular con hidróxido de potasio 0,05 N (SV), empleando fenolftaleína (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de hidróxido de potasio 0,05 N equivale a 88,1 mg de ácido butírico. Contiene no más de 0,5 %.

Tricetohidrendeno monohidrato - Ver Nihidrina.

Tricloroetano - Ver Metilcloroformo.

Triclorofluorometano - CCl_3F - (PM: 137,4) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de conductividad térmica y una columna de vidrio de 1,8 m \times 2,0 mm con 10 % de fase estacionaria constituida por aceite de dimetilpolisiloxano, sobre un soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C. [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutra-

lidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 50 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 0 °C y se programa un ascenso de 3 °C por minuto hasta 50 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de CCl_3F no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,380 y 1,384, a 20 °C.

Triclorotrifluoroetano - Emplear uno de grado apropiado.

Tricloruro de antimonio - (*Cloruro antimonioso*) - $SbCl_3$ - (PM:228,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Tricloruro de titanio - (*Cloruro titanoso*) - $TiCl_3$ - (PM: 154,2) - Polvo negro, higroscópico, inestable al aire. Soluble en agua, la solución deposita ácido tánico en contacto con el aire. Está disponible generalmente como soluciones acuosas del 15 al 20 %, violeta-azul oscuras. Almacenar la solución en botellas bien cerradas, de vidrio inactivo con tapón.

n-Tricosano - $C_{23}H_{48}$ - (PM: 324,6) - Masa incolora o blanca, más o menos translúcida, mostrando una estructura cristalina. Inodoro o prácticamente inodoro. Tiene un aspecto algo grasoso. Insoluble en agua y alcohol; soluble en cloroformo, éter, aceites volátiles y la mayoría de los aceites fijos calientes; poco soluble en alcohol absoluto. Hierve a aproximadamente 380 °C.

Intervalo de fusión <260> - Entre 47 y 49 °C.

Aptitud - Determinar su aptitud en el ensayo para *Sustancias relacionadas en Clorhidrato de dextropropoxifeno* del siguiente modo. Disolver una cantidad apropiada en cloroformo para obtener una solución que contiene 20 μ g por ml. Procediendo según se indica en el ensayo para *Sustancias relacionadas en Clorhidrato de dextropropoxifeno*, inyectar un volumen apropiado de la solución en el cromatógrafo y registrar el cromatograma de la *Solución estándar* preparada según se indica en el ensayo para *Sustancias relacionadas*: sólo un pico principal se obtiene a partir de la solución de n-tricosano y no se observan picos menores a, o cerca de, los picos obtenidos para dextropropoxifeno, acetoxi, o carbinol en el cromatograma de la *Solución estándar*.

Trietanolamina - Emplear *Trolamina*.

Trietilamina - $(C_2H_5)_3N$ - (PM: 101,2) - Líquido incoloro, de fuerte olor amoniacal. Poco soluble

en agua. Miscible con alcohol, éter y agua fría. Almacenar en envases bien cerrados.

Intervalo de ebullición (Ensayo para reactivos) - Entre 89 y 90 °C.

Absorbancia - Transferir 1 ml a un matraz aforado de 50 ml, agregar 10 ml de metanol y 1 ml de ácido clorhídrico y completar a volumen con cloroformo. La absorbancia de esta solución, determinada a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente 285 nm, con un espectrofotómetro apropiado, no excede 0,01. [NOTA: si la absorbancia excede 0,01, purificar la trietilamina del siguiente modo: calentar a reflujo 100 ml con 20 ml de agua y 2 g de hidrosulfito de sodio durante no menos de 8 horas, lavar con agua, secar por reflujo, empleando una trampa de Dean-Stark y destilar, recolectar sólo los primeros 75 ml de filtrado. Almacenar sobre carbonato de sodio anhidro o carbonato de potasio anhidro.]

Trietilenglicol - $C_6H_{14}O_4$ - (PM: 150,2) - Líquido incoloro a amarillo pálido. Es higroscópico. Miscible con agua, alcohol y tolueno.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,85 m \times 3 mm con un soporte constituido por un copolímero de estireno-divinilbenceno con un área superficial nominal de menos de 50 m² por g y un diámetro de poro promedio de 0,3 a 0,4 μ m. Mantener el inyector, la columna y el detector a aproximadamente 250, 230 y 310 °C, respectivamente. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico $C_6H_{14}O_4$ no es menor de 97 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,4550 y 1,4570, a 20 °C.

Trifenilmetano - $C_{19}H_{16}$ - (PM: 244,3) - Polvo marrón claro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano de 1 μ m. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 300 °C. La temperatura de la columna se mantiene a 200 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta alcanzar 300 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de $C_{19}H_{16}$ no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 92 y 94 °C.

2,2,2-Trifluoroetanol - CF_3CH_2OH - (PM: 100,0) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*)

equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μ m de una fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 100 y 150 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 0 °C y se programa un ascenso de 10°C por minuto hasta alcanzar 150 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de CF_3CH_2OH no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión - Entre 77 y 80 °C.

2,2,2-Trifluoroetildifluorometil éter - (*Difluoro-metil-2,2,2-trifluoroetil éter*) - $C_3H_3F_5O$ - (PM: 150,1) - Líquido transparente. Emplear uno de grado apropiado.

Intervalo de fusión <260> - Entre 28 y 30 °C.

5-(Trifluorometil)uracilo - $C_5H_3F_3N_2O_2$ - (PM: 180,1) - Polvo blanco a casi blanco.

Identificación -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Cloroformo, metanol y ácido acético (17:2:1).

Procedimiento - Examinar los cromatogramas bajo luz ultravioleta a 366 nm. Se debe observar una única mancha.

Trifluoruro de boro - BF_3 - (PM: 67,8) - Emplear uno de grado apropiado.

Trimetilclorosilano - Ver Clorotrimetilsilano.

2,2,4-Trimetilpentano - (*Isooctano*) - C_8H_{18} - (PM: 114,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

2,4,6-Trimetilpiridina - (*5-Colidina*) - $C_8H_{11}N$ - (PM: 121,2) - Líquido claro, incoloro, de olor aromático. Soluble en agua fría y menos soluble en agua caliente; soluble en alcohol, cloroformo y metanol. Miscible con éter.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,85 m \times 3 mm con una fase estacionaria constituida por un compuesto de polietilenglicol (p.m.p aproximadamente 15.000 [NOTA: un compuesto de polietilenglicol de alto peso molecular con un ligando diepóxido]), sobre un soporte constituido por tierra silícea para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C. [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido

luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silíceo puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los grupos silanoles superficiales.] Mantener el inyector, la columna y el detector a aproximadamente 180, 165 y 270 °C, respectivamente. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico $C_8H_{11}N$ no es menos de 98 % del área total.

Índice de refracción - Entre 1,4970 y 1,4990, a 20 °C.

N-(Trimetilsilil)-imidazol - $C_6H_{12}N_2Si$ - (PM: 140,3) - Líquido transparente, incoloro a amarillo claro.

Índice de refracción - Entre 1,4744 y 1,4764, a 20 °C.

3-(Trimetilsilil)-1-propano sulfonato de sodio - (2,2-Dimetil-2-silapentano-5-sulfonato sódico) - $C_6H_{15}SiNaO_3S$ - (PM: 218,3) - Emplear uno de grado apropiado.

Trinitrofenol - Ver Ácido pícrico.

Trióxido de arsénico - As_2O_3 - (PM: 197,8) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Trióxido de cromo - CrO_3 - (PM: 100,0) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

L-Triptofano - $C_{11}H_{12}N_2O_2$ - (PM: 204,2) - Laminillas o polvo blanco o ligeramente amarillo. Poco soluble en alcohol y agua; soluble en ácidos diluidos y en soluciones de hidróxidos alcalinos.

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 300 mg, disolverlos en una mezcla de 3 ml de ácido fórmico y 50 ml de ácido acético glacial, agregar 2 gotas de cristal violeta (SR). Titular con ácido perclórico 0,1 N (SV) hasta punto final verde. Cada mililitro de ácido perclórico 0,1 N equivale a 20,42 mg de $C_{11}H_{12}N_2O_2$. Contiene entre 98,0 y 102,0 %, calculado sobre la sustancia seca.

Rotación específica <170> - Entre -30,0° y -33,0°, determinado en una solución que contiene 1,0 g de muestra, previamente secada a 105 °C durante 3 horas, en 100 ml.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 3 horas: no pierde más de 0,3 % de su peso.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - No más de 0,1 %.

Tirosina - Disolver 100 mg en 3 ml de ácido sulfúrico diluido, agregar 10 ml de sulfato mercúrico (SR) y calentar en un baño de vapor durante 10 minutos. Filtrar, lavar con 5 ml de sulfato mercúrico (SR) y agregar al filtrado combinado 0,5 ml de solución de nitrito de sodio (1 en 20): no se produce color rojo dentro de los 15 minutos.

Triptona - Emplear Digerido pancreático de caseína.

Tris(2-aminoetil)amina - $C_6H_{18}N_4$ - (PM: 146,2) - Líquido amarillo. Soluble en metanol.

Valoración - Disolver aproximadamente 80 mg en 30 ml de metanol. Agregar 40 ml de agua y titular con ácido clorhídrico 1 N, determinando el punto final potenciométricamente. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de ácido clorhídrico 1 N equivale a 48,75 mg de $C_6H_{18}N_4$. Contiene no menos de 98,0%.

Índice de refracción - Entre 1,4956 y 1,4986, a 20 °C.

1,3,5-tris(3,5-di-ter-butil-4-hidroxibencil)-s-triazina-2,4,6-(1H,3H,5H) triona - $C_{48}H_{69}N_3O_6$ - (PM: 784,1) - Polvo blanco cristalino.

Intervalo de fusión - Entre 218 y 222 °C.

Tris(hidroximetil)aminometano - Emplear un reactivo analítico apropiado. Ver Trometamina.

Trombina bovina - Preparación de una enzima obtenida a partir de plasma bovino y capaz de transformar el fibrinógeno en fibrina. Polvo blanco amarillento. Conservar a una temperatura menor de 0 °C.

Trombina humana - Trombina humana desecada. Es una preparación de una enzima que transforma el fibrinógeno humano en fibrina. Se obtiene a partir de plasma humano líquido y puede prepararse por precipitación con sales apropiadas y solventes orgánicos en condiciones controladas de pH, fuerza iónica y temperatura. Polvo blanco amarillento. Fácilmente soluble en una solución de 9 mg de cloruro de sodio por ml, dando una solución turbia, amarillo pálido.

Tromboplastina - Polvo color amarillo ligero o suspensión opalescente o turbia. Presenta actividad tromboquinasa obtenida a partir del cerebro y/o tejido del pulmón, extraído con acetona, de conejos recientemente sacrificados. Puede contener cloruro de sodio y cloruro de calcio en proporciones apropiadas y puede contener un conservante apropiado. Puede tener el olor característico de tejido animal seco. Se emplea en forma de suspensión para la determinación del tiempo y actividad de protrombina en sangre. Su actividad tromboquinasa es tal que da un tiempo de coagulación entre 11 a 16 segundos con plasma humano normal y concentración apropiada de iones de calcio. Almacenar en envases de cierre perfecto, preferentemente a una temperatura debajo de 5 °C.

Pérdida por secado <680> - [NOTA: este ensayo es aplicable sólo a la forma seca.] Secar al vacío

a 60°C durante 6 horas: no pierde más de 5,0 % de su peso.

Trometamina -

[*Tris(hidroxi metil)aminometano; THAM; 2-Amino-2-(hidroxi metil)-1,3-propanodiol*] - $C_4H_{11}NO_3$ - (PM: 121,1) - Emplear Tris(hidroxi metil)amino metano grado analítico.

Tropeolina OO - (*Naranja ácido 5*) - (PM: 375,4) - $C_{18}H_{14}N_3NaO_3S$ - Escamas amarillo anaranjadas o polvo amarillo. Soluble en agua.

Intervalo de pH - Entre 1,4 (rojo) y 2,6 (amarillo).

Tungstato sódico - $Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$ - (PM: 329,9) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

U

Uracilo - $C_4H_4N_2O_2$ - (PM: 112,1) - Polvo cristalino color blanco o crema. Funde encima de 300 °C. Poco soluble en agua; menos soluble en alcohol; soluble en amoníaco (SR) y en hidróxido de sodio (SR). Sus soluciones no producen precipitado con los precipitantes usuales de alcaloides.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 100 mg.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 2 horas: no pierde más de 2 % de su peso.

Urea - NH_2CONH_2 - (PM: 60,1) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

Uretano - (*Carbamato de etilo*) - $C_3H_7NO_2$ - (PM: 89,1) - Polvo blanco con pequeños trozos. Fácilmente soluble en agua.

Intervalo de fusión <260> - Entre 48 y 50 °C.

Uridina - $C_9H_{12}N_2O_6$ - (PM: 244,2) - Polvo blanco.

Valoración -

Fase móvil - Metanol y acetato de amonio 0,2 M (90:10), ajustar con ácido fosfórico a pH 7,0.

Procedimiento - Inyectar aproximadamente 20 µl en un equipo para cromatografía de líquidos (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de 15 cm × 4,6 mm con fase estacionaria constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas de sílice porosa de 3 a 10 µm de diámetro. El caudal es de aproximadamente 2,0 ml por minuto. El área del pico $C_9H_{12}N_2O_6$ no es menor de 99 % del área total.

Intervalo de fusión <260> - Entre 166 y 171 °C.

V

Vainillin - [4-hidroxi - 3-metoxibenzaldehído] - $C_8H_8O_3$ - (PM: 152,2)

Valerofenona - $C_{11}H_{14}O$ - (PM: 162,2) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar recubierta con una capa de $1\ \mu\text{m}$ de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 150 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 300°C. Se emplea helio como gas transportador. La respuesta del pico $C_{11}H_{14}O$ no debe ser menor de 98 % de la respuesta total.

Índice de refracción <230> - Aproximadamente 1,5149, a 20 °C.

Intervalo de ebullición - Entre 105 y 107 °C, a una presión de 5 mm Hg.

Vanadato de amonio - (*Metavanadato de amonio*) - NH_4VO_3 - (PM: 117,0) - Polvo blanco, cristalino. Poco soluble en agua fría; soluble en agua caliente y amoníaco (SR).

Valoración - Pesar exactamente alrededor de 500 mg, transferirlos a un envase apropiado, agregar 30 ml de agua y 2 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 4), agitar por rotación hasta disolver y hacer pasar dióxido de azufre gaseoso a través de la solución hasta que la solución se torne color azul brillante. Calentar a ebullición suavemente mientras se hace pasar una corriente de dióxido de carbono a través de la solución para eliminar el dióxido de azufre en exceso y luego enfriar. Titular con permanganato de potasio 0,1 N (SV). Cada mililitro de permanganato de potasio 0,1 N consumido equivale a 11,7 mg de NH_4VO_3 . Contiene no menos de 98,0 %.

Solubilidad en hidróxido de amonio - Disolver 1 g en una mezcla de 3 ml de hidróxido de amonio y 50 ml de agua caliente: la solución es transparente e incolora.

Carbonato - A 500 mg agregar 1 ml de agua y 2 ml de ácido clorhídrico diluido: no se produce efervescencia.

Cloruro - Disolver 250 mg en 40 ml de agua caliente, agregar 2 ml de ácido nítrico y dejar reposar durante 1 hora. Filtrar y agregar al filtrado 0,5 ml de nitrato de plata (SR): si se produce turbidez no debe

exceder la de un blanco conteniendo 0,5 mg de Cl (0,2 %).

Sulfato - Disolver 500 mg en 50 ml de agua caliente y agregar 2 ml de ácido clorhídrico diluido y 1,5 g de clorhidrato de hidroxilamina. Calentar a 60 °C durante 3 minutos, filtrar, enfriar y agregar al filtrado 2 ml de cloruro de bario (SR): no se produce turbidez o precipitado alguno dentro de 30 minutos.

Verde brillante - (*Verde de malaquita G*) - $C_{27}H_{34}N_2O_4S$ - (PM: 482,6) - Cristales brillantes color amarillo oro. Soluble en agua y alcohol. Máximo de absorción a 623 nm.

Verde de malaquita G - Ver Verde brillante.

1-Vinil-2-pirrolidona - (*1-Vinil-pirrolidin-2-ona*) - C_6H_9NO - (PM: 111,1) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m \times 0,25 mm recubierta con una capa de $1\ \mu\text{m}$ de fase estacionaria constituida por goma de dimetilpolisiloxano. Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 250 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 100 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 250 °C. Se emplea helio como gas transportador. La respuesta del pico de C_6H_9NO no debe ser menor de 99,0 % de la respuesta total.

Violeta de p-iodonitrotetrazolio - [*Cloruro de 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-feniltetrazolio*] - $C_{19}H_{13}ClIN_5O_2$ - (PM: 505,7) - Polvo de color amarillo claro.

Valoración -

Fase estacionaria - Emplear una placa para cromatografía en capa delgada (ver 100. *Cromatografía*) recubierta con gel de sílice para cromatografía con indicador de fluorescencia de 0,25 mm de espesor.

Fase móvil - Alcohol amílico, ácido fórmico y agua (8:1:1).

Revelador - Solución de tiosulfato de sodio al 0,1%.

Procedimiento - Pulverizar con *Revelador* sobre la placa y examinar bajo luz ultravioleta a 254 nm. Presenta una sola mancha, con trazas de impurezas.

Punto de fusión <260> - Aprox. 240 °C, con descomposición.

X

Xantidrol - $C_{13}H_{10}O_2$ - (PM: 198,2) - Polvo cristalino amarillo pálido. Insoluble en agua; soluble en alcohol, cloroformo y éter. Soluble en ácido acético glacial, dando una solución prácticamente incolora; cuando el polvo se trata con ácido clorhídrico diluido, se produce un color amarillo limón.

Intervalo de fusión <260> - Entre 121 y 123 °C.

Residuo de ignición <270> - Someter a ignición 500 mg con 0,5 ml de ácido sulfúrico: el residuo no pesa más de 10 mg (2,0 %).

Xantina - $C_5H_4N_4O_2$ - (PM: 152,1) - Polvo blanco, cristalino. Se descompone con el calentamiento. Poco soluble en agua y alcohol; soluble en hidróxido de sodio (SR); moderadamente soluble en ácido clorhídrico diluido. Cuando se somete a la reacción de murexida se produce un color púrpura con el amoníaco; con el agregado posterior de hidróxidos alcalinos, el color no desaparece pero cambia a violeta.

Residuo de ignición (Ensayo para reactivos) - Inapreciable, determinado sobre 100 mg.

Pérdida por secado <680> - Secar a 105 °C durante 2 horas: no pierde más de 1 % de su peso.

Xileno - C_8H_{10} - (PM: 106,2) - Emplear un reactivo analítico apropiado.

m-Xileno - C_8H_{10} - (PM: 106,2) - (1,3-dimetilbenceno) - Líquido inflamable, límpido e incoloro. Miscible con alcohol y éter. Prácticamente insoluble en agua.

Densidad relativa - Aprox. 0,884 a 20 °C.

Índice de refracción <230> - Aprox. 1,497 a 20 °C.

Punto de ebullición - Aprox. 139 °C.

Punto de fusión - Aprox. - 47 °C.

o-Xileno - C_8H_{10} - (PM: 106,2) - Líquido transparente, incoloro, móvil e inflamable. Insoluble en agua; miscible con alcohol y éter.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna de acero inoxidable de 1,8 m x 3 mm empacada con 1,75 % de silicato de aluminio hidratado más 5,0 % de diisododecil ftalato sobre un soporte constituido por tierra silíceas para cromatografía de gases la cual ha sido calcinada mezclando diatomea con Na_2CO_3 y calcinada a 900 °C. [NOTA: la tierra silícea se lava con ácido luego se lava con agua hasta neutralidad pero no se lava con bases. La tierra silícea puede ser silanizada al tratarla con un agente como dimetildiclorosilano para bloquear los

grupos silanoles superficiales]. Mantener el detector, el inyector y la columna a aproximadamente 280, 180 y 80 °C, respectivamente. Se emplea helio como gas transportador con un caudal de aproximadamente 27,5 ml por minuto. Presenta una pureza no menor de 95 %.

Índice de refracción - Entre 1,5040 y 1,5060, a 20 °C.

p-Xileno - C_8H_{10} - (PM: 106,2) - Líquido incoloro.

Valoración - Inyectar una alícuota apropiada en un cromatógrafo de gases (ver 100. *Cromatografía*) equipado con un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 30 m x 0,25 mm recubierta con una capa de 1 μ m de una fase estacionaria constituida por polietilenglicol (p.m.p de 950 a 1.050). Mantener el inyector y el detector a aproximadamente 130 y 300 °C, respectivamente. La temperatura de la columna se mantiene a 50 °C y se programa un ascenso de 10 °C por minuto hasta 100 °C. Se emplea helio como gas transportador. El área del pico de C_8H_{10} no es menor de 99 % del área total.

Índice de refracción <230> - Entre 1,493 y 1,497, a 20 °C.

Xileno cianol FF - $C_{25}H_{27}N_2NaO_6S_2$ - (PM: 538,6) - Polvo de color gris azulado a azul oscuro. Soluble en agua.

Valoración - Transferir aproximadamente 50 mg, exactamente pesados, a un matraz aforado de 100 ml, disolver en agua, completar a volumen con agua y mezclar. Transferir 2,0 ml de la solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con solución reguladora de fosfato pH 7,0 (ver *Soluciones reguladoras*) y mezclar. Determinar la absorbancia de la solución en celdas de 1 cm, a la longitud de onda de máxima absorción, aproximadamente a 614 nm, con un espectrofotómetro apropiado, empleando agua como blanco. Calcular la absorbancia (ver 470. *Espectrofotometría ultravioleta y visible*): la absorbancia no es menor de 55,9, correspondiendo aproximadamente a 83 % de $C_{25}H_{27}N_2NaO_6S_2$.

Pérdida por secado <680> - Secar a 110 °C hasta peso constante: no pierde más de 6,0 % de su peso.

Xilosa - $C_5H_{10}O_5$ - (PM: 150,1) - Emplear un grado apropiado.

INDICADORES, PAPELES Y PAPELES INDICADORES

INDICADORES

Los indicadores se emplean en los ensayos y valoraciones de este compendio para indicar la finalización de una reacción química en el análisis volumétrico o para indicar la concentración de ion hidrógeno (pH) de las soluciones. Las soluciones indicadoras necesarias se enumeran entre las *Soluciones de reactivos*, abreviadas como (SR).

Las soluciones de indicadores básicos y del grupo de las ftaleínas se preparan mediante disolución en alcohol. En el caso de indicadores que contienen un grupo ácido, este grupo debe, en primer lugar, neutralizarse con hidróxido de sodio del siguiente modo:

Triturar 100 mg del indicador en un mortero de superficie lisa con el volumen de hidróxido de sodio 0,05 N especificado en las indicaciones para preparar la *Solución de reactivo*, o con el equivalente de hidróxido de sodio 0,02 N. Cuando se ha disuelto el indicador, diluir la solución con agua a 200 ml (0,05%). Almacenar las soluciones en envases inactivos apropiados.

Enumerados en orden ascendente según el límite inferior del intervalo, los indicadores de pH útiles son: azul de timol, pH 1,2 - 2,8; amarillo de metilo, pH 2,9 - 4,0; azul de bromofenol, pH 3,0 - 4,6; verde de bromocresol, pH 4,0 - 5,4; rojo de metilo, pH 4,2 - 6,2; púrpura de bromocresol, pH 5,2 - 6,8; azul de bromotimol, pH 6,0 - 7,6; rojo de fenol, pH 6,8 - 8,2; azul de timol, pH 8,0 - 9,2 y timolftaleína, pH 8,6-10,0.

Alfazorina 2G - Emplear uno de grado apropiado.

Amarillo brillante (C.I. 24.890) - (PM: 592,5) - $C_{26}H_{18}N_4Na_2O_8S$ - Polvo anaranjado o color óxido. Soluble en agua.

Pérdida por secado <680> - Secar al vacío a 60°C durante 1 hora: no pierde más de 5 % de su peso.

Amarillo de metilo - $C_{14}H_{15}N_3$ - (*p*-Dimetilaminoazobenceno) - (PM: 225,3) - Cristales amarillos que funden entre 114 y 117 °C. Insoluble en agua; soluble en alcohol, cloroformo, éter, ácidos minerales diluidos y aceites. Intervalo de transición: de pH 2,9 a 4,0. Cambio de color: de rojo a amarillo.

Azo violeta - [*4*-(*p*-Nitrofenilazo)resorcinol] - $C_{12}H_9N_3O_4$ - (PM: 259,2) - Polvo rojo. Funde aproximadamente a 193 °C, con descomposición.

Azul de bromocresol - Ver Verde de bromocresol.

Azul de bromofenol - $C_{19}H_{10}Br_4O_5S$ - (*3',3'',5',5''*-Tetrabromofenolsulftaleína) - (PM: 670,0) - Cristales rosados. Insoluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones de hidróxidos alcalinos. Intervalo de transición: de pH 3,0 a 4,6. Cambio de color: de amarillo a azul.

Azul de bromofenol sódico - (*Sal sódica de 3',3'',5',5''*-Tetrabromofenolsulftaleína) - $C_{19}H_9Br_4O_5SNa$ - Cristales rosados. Soluble en agua y en alcohol. Intervalo de transición: de pH 3,0 a 4,6. Cambio de color: de amarillo a azul.

Azul de bromotimol - $C_{27}H_{28}Br_2O_5S$ - (*3',3''*-Dibromotimolsulftaleína) - (PM: 624,4) - Polvo color crema. Insoluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones de hidróxidos alcalinos. Intervalo de transición: de pH 6,0 a 7,6. Cambio de color: de amarillo a azul.

Azul de hidroxinaftol - $C_{20}H_{14}N_2O_{11}S_3$ - (PM: 554,5) - Sal disódica del ácido 1-(2-naftolazo-3,6-disulfónico)-2-naftol-4-sulfónico depositado sobre cristales de cloruro de sodio - Cristales azules pequeños. Fácilmente soluble en agua. En el intervalo de pH entre 12 y 13, su solución es de color rojo rosado en presencia de ion calcio y azul profundo en presencia de edetato disódico en exceso.

Aptitud para la determinación de calcio - Disolver 300 mg en 100 ml de agua, agregar 10 ml de hidróxido de sodio (SR) y 1,0 ml de solución de cloruro de calcio (1 en 200) y diluir con agua a 165 ml: la solución es rojizo rosada. Agregar 1,0 ml de edetato disódico 0,05 M: la solución vira a azul profundo.

Azul de oracet B - (*Solvente azul 19*) - Una mezcla de ($C_{21}H_{16}N_2O_2$) 1-metilamino-4-anilinoantraquinona y de ($C_{20}H_{14}N_2O_2$) 1-amino-4-anilinoantraquinina - Cuando se emplea para titulación en medios no acuosos, su color cambia de azul (básico), púrpura (neutro) a rosado (ácido).

Azul de timol - (*Timolsulftaleína*) - $C_{27}H_{30}O_5S$ (PM: 466,6) - Polvo cristalino de color oscuro. Poco soluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones de álcalis diluidos. *Ácido* - Intervalo de transición: de pH 1,2 a 2,8. Cambio de color: de rojo a amarillo. *Alcalino* - Intervalo de transición:

de pH 8,0 a 9,2. Cambio de color: de amarillo a azul.

Azul nilo, clorhidrato - $C_{20}H_{20}ClN_3O$ - (PM: 353,9) - (*Azul nilo A, como clorhidrato; Cloruro de 5-amino-9-(dietilamino)benzo [a] fenoxazin-7-io*) - Poco soluble en alcohol y en ácido acético glacial. Intervalo de transición: de pH 9,0 a 13,0. Cambio de color: de azul a rosado.

Cristal violeta - (*Cloruro de hexametil p-rosanilina*) - $C_{25}H_{30}ClN_3$ - (PM: 408,0) - Cristales verde oscuro. Poco soluble en agua; moderadamente soluble en alcohol y en ácido acético glacial. Sus soluciones son color violeta profundo.

Sensibilidad - Disolver 100 mg en 100 ml de ácido acético glacial y mezclar. Transferir 1 ml de solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con ácido acético glacial: la solución es color azul-violeta y no presenta un tinte rojizo. Transferir 20 ml de la solución diluida a un vaso de precipitados y titular con ácido perclórico 0,1 N (SV), agregando el ácido perclórico lentamente desde una microbureta: no se consumen más de 0,10 ml de ácido perclórico 0,1 N para producir un color verde-esmeralda.

Fenoltaleína - [*3,3-Bis(p-hidroxifenil)ftalida*] - $C_{20}H_{14}O_4$ - (PM: 318,3) - Polvo blanco o débilmente amarillento blanco, cristalino. Insoluble en agua; soluble en alcohol. Intervalo de transición: de pH 8,0 a 10,0. Cambio de color: de incoloro a rojo.

p-Naftolbenceína - (PM: 374,4) - (4-[α -(4-Hidroxi-1-naftil)bencilideno]-1(4H)-naftalenona) - (4-HOC₁₀H₆C:(C₁₀H₆-4:O)(C₆H₅)) - Polvo pardo rojizo. Insoluble en agua; soluble en alcohol, éter y ácido acético glacial. Intervalo de transición: de pH 8,8 a 10,0. Cambio de color: de anaranjado a verde.

Naranja de metilo - (*Heliantina o tropeolina D*) - $C_{14}H_{14}N_3NaO_3S$ - (PM: 327,3) - Sal sódica del ácido dimetilaminoazobenceno sulfónico o dimetilaminoazobenceno sulfonato sódico. Polvo o escamas cristalinas de color amarillo anaranjado. Poco soluble en agua fría; fácilmente soluble en agua caliente; insoluble en alcohol. Intervalo de transición: de pH 3,2 a 4,4. Cambio de color: de rosado a amarillo.

Naranja de xilenol - $C_{31}H_{28}N_2Na_4O_{13}$ - (*N,N'*-[*3H-2,1-Benzoxatiol-3-ilidenbis-(6-hidroxi-5-metil-3,1-fenilen)metilen*]]bis[*N*-(*carboximetil*)glicina] *S,S*-dióxido) - (PM: 760,6) - Polvo anaranjado. Soluble en alcohol y agua. En solución ácida, es color amarillo limón y sus complejos metálicos son intensamente rojos. Proporciona un punto final diferenciado cuando un metal, como por ej., bismuto, cadmio, lantano, plomo,

mercurio, escandio, torio o cinc se titula con edetato disódico.

Negro de eriocromo T - [*1-(1-Hidroxi-2-naftilazo)-5-nitro-2-naftol-4-sulfonato de sodio*] - (PM: 461,4) - $C_{20}H_{12}N_3NaO_7S$ - Polvo negro pardusco que tiene un débil brillo metálico. Soluble en alcohol, metanol y agua caliente.

Sensibilidad - A 10 ml de una solución (1 en 200.000) en una mezcla de partes iguales de metanol y agua agregar solución de hidróxido de sodio (1 en 100) hasta pH 10: la solución es color azul y exenta de turbidez. Agregar 0,01 mg de ion magnesio (Mg): el color de la solución se torna de color rojo violeta y con el agregado continuado de ion magnesio adquiere una coloración rojo vino.

Negro de eriocromo T triturado - Reducir a polvo 200 mg de negro de eriocromo T a polvo fino con 20 g de cloruro de potasio.

Púrpura de bromocresol - (*Dibromo-*o*-cresolsulfotaleína*) - $C_{21}H_{16}Br_2O_5S$ - (PM: 540,2) - Polvo cristalino blanco a rosado. Insoluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones de hidróxidos alcalinos. Intervalo de transición: de pH 5,2 a 6,8. Cambio de color: de amarillo a púrpura.

Púrpura de ftaleína - Ver Púrpura de ftaleína en *Especificaciones de reactivos*.

Rojo congo - Ver Rojo congo en *Especificaciones de reactivos*.

Rojo cresol - (**o*-Cresolsulfotaleína*) - $C_{21}H_{18}O_5S$ - (PM: 382,4) - Polvo rojo-pardo. Poco soluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones diluidas de hidróxidos alcalinos. Intervalo de transición: de pH 7,2 a 8,8. Cambio de color: de amarillo a rojo.

Rojo de fenol - [*4,4'-(3H-2,1-Benzoxatiol-3-iliden)difenol, S,S-dióxido*] - $C_{19}H_{14}O_5S$ - (PM: 354,4) - Polvo cristalino, varía el color de rojo brillante a rojo oscuro. Muy poco soluble en agua; fácilmente soluble en soluciones de carbonatos e hidróxidos alcalinos; poco soluble en alcohol. Intervalo de transición: de pH 6,8 a 8,2. Cambio de color: de amarillo a rojo.

Rojo de metilo - (PM: 305,8) - (*Ácido 2-[[4-(dimetilamino)fenil]azo]benzoico, clorhidrato*) - 2-[4-(CH₃)₂NC₆H₄N:N]C₆H₄COOH] . HCl - Polvo rojo oscuro o cristales de color violeta. Moderadamente soluble en agua; soluble en alcohol. Intervalo de transición: de pH 4,2 a 6,2. Cambio de color: de rojo a amarillo.

Rojo de metilo sódico - (*Sal sódica del ácido 2-[[4-(dimetilamino)fenil]azo] benzoico*) - (PM: 291,3) - 2-[4-(CH₃)₂NC₆H₄N:N]C₆H₄COONa

- Polvo naranja pardusco. Fácilmente soluble en agua fría y alcohol. Intervalo de transición: de pH 4,2 a 6,2. Cambio de color: de rojo a amarillo.

Rojo de quinaldina - (*Ioduro de 5-dimetilamino-2-estiriletil quinolinio*) - $C_{21}H_{23}IN_2$ - (PM: 430,3) - Polvo de color azul oscuro a negro. Moderadamente soluble en agua; fácilmente soluble en alcohol. Funde aproximadamente a 260 °C, con descomposición. Intervalo de transición: de pH 1,4 a 3,2. Cambio de color: de incoloro a rojo.

Rojo neutro - (*3-Amino-7-dimetilamino-2-metilfenazina monoclóhidrato*) - $C_{15}H_{16}N_4.HCl$ - (PM: 288,8) - Polvo grueso color rojizo a verde aceituna. Moderadamente soluble en agua y alcohol. Intervalo de transición: de pH 6,8 a 8,0. Cambio de color: de rojo a anaranjado.

Sal sódica de púrpura de bromocresol - (PM: 562,2) - $C_{21}H_{15}Br_2O_5SNa$ - Polvo negro. Soluble en agua. Intervalo de transición: de pH 5,0 a 6,8. Cambio de color: de amarillo verdoso a púrpura-violeta.

Intervalo de fusión <260> - Entre 261 y 264 °C.

Sal trisódica del ácido 2-(4-sulfofenilazo)-1,8-dihidroxi-3,6 naftaleno disulfónico - (*Sal trisódica del ácido 4,5-dihidroxi-3-(p-sulfofenilazo)-2,7-naftalenodisulfónico*) - $C_{16}H_9N_2O_{11}S_3Na_3$ - (PM: 570,4) - Polvo rojo. Soluble en agua.

Sal sódica de verde de bromocresol - Emplear uno de grado apropiado.

Sulfito de bismuto - Emplear uno de grado apropiado.

Solución mezcla de azul sulfán y bromuro de dimidium -

Timolftaleína - $C_{28}H_{30}O_4$ - (PM: 430,5) - Polvo cristalino blanco a algo amarillo. Insoluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones de hidróxidos alcalinos. Intervalo de transición: de pH 9,3 a 10,5. Cambio de color: de incoloro a azul.

Tornasol - Polvo azul. Parcialmente soluble en agua y alcohol. Intervalo de transición: de pH aproximadamente 4,5 a 8. Cambio de color: de rojo a azul. El papel de tornasol no es apropiado para determinar el pH de alcaloides, carbonatos y bicarbonatos.

Verde brillante - Ver Verde brillante en la *Especificaciones de reactivos*.

Verde de bromocresol - (*Azul de bromocresol; Tetrabromo m-cresolsulftaleína*) - $C_{21}H_{14}Br_4O_5S$ - (PM: 698,0) - Polvo blanco o amarillo pálido. Poco soluble en agua; soluble en alcohol y en soluciones de hidróxidos alcalinos. Intervalo de transición: de pH 4,0 a 5,4. Cambio de color: de amarillo a azul.

Verde de malaquita, oxalato - (PM: 927,0) - $[4-NH(CH_3)_2C_6H_4C(C_6H_5):C_6H_4-4-N(CH_3)_2(OCO COOH)]_2(COO)_2$ - Es el oxalato, cristalizado con ácido oxálico, de un colorante derivado del trifenilmetano. Polvo verde oscuro, de brillo metálico. Moderadamente soluble en agua; soluble en ácido acético glacial. Intervalo de transición: de pH 0,0 a 2,0. Cambio de color: de amarillo a verde.

PAPELES Y PAPELES INDICADORES

Los papeles y papeles indicadores son tiras de papel de dimensión y grado apropiado (ver *Papel de filtro cuantitativo*, en *Especificaciones de reactivos*) impregnadas con un indicador o un reactivo. Algunos papeles pueden obtenerse comercialmente. Aquellos requeridos en los ensayos y valoraciones de este compendio pueden ser preparados según se indica a continuación.

Tratar el papel de filtro con ácido clorhídrico y lavarlo con agua hasta que el último lavado ya no de reacción ácida con rojo de metilo. Luego tratar con amoníaco (SR) y lavar nuevamente con agua hasta que el último lavado no sea alcalino a la fenolftaleína.

Luego de un secado minucioso, saturar el papel con la concentración apropiada de soluciones indicadoras y cuidadosamente secar al aire, a menos

que se especifique de otro modo, suspendiéndolos en varillas de vidrio u otro material inerte en un espacio exento de ácido, álcali y otros gases.

Cortar el papel en tiras de tamaño conveniente y almacenar los papeles en envases inactivos, bien cerrados, protegidos de la humedad.

Papel de amarillo de metilo - Emplear una solución (1 en 2000) de amarillo de metilo en alcohol.

Papel de cúrcuma - Emplear una solución preparada del siguiente modo: macerar 20 g de polvo de cúrcuma, la raíz seca de *Curcuma longa* Linne (Fam. Zingiberaceae), con cuatro porciones de 100 ml de agua fría, decantando la porción líquida transparente cada vez y descartándola. Secar el residuo a una temperatura no mayor de 100 °C.

Macerar con 100 ml de alcohol durante varios días y filtrar.

Sensibilidad - Sumergir una tira del papel, de longitud de aproximadamente 1,5 cm, en una solución de 1,0 mg de ácido bórico en 5 ml de agua, previamente mezclada con 1 ml de ácido clorhídrico. Luego de 1 minuto remover el papel del líquido y dejarlo secar: el color amarillo cambia a pardo. Luego humedecer el papel con amoníaco (SR): el color del papel cambia a negro verdoso.

Papel de fenolftaleína - Emplear una solución (1 en 1.000) de fenolftaleína en alcohol diluido.

Papel de iodato - almidón - Emplear una mezcla de volúmenes iguales de almidón (SR) y solución de iodato de potasio (1 en 20).

Papel de ioduro - almidón - Emplear una solución de 500 mg de ioduro de potasio en 100 ml de almidón recientemente preparado (SR).

Papel de acetato de plomo - Generalmente de un tamaño aproximado de 6 mm × 80 mm. Usar acetato de plomo (SR) y secar el papel a 100 °C, evitando el contacto con metales.

Papel de bromuro mercúrico - Emplear bromuro mercúrico alcohólico (SR). Almacenar protegido de la luz.

Papel de sulfato cúprico - Emplear sulfato cúprico (SR).

Papel de tornasol azul - Generalmente de un tamaño aproximado de 6 mm × 50 mm. Cumple con los requisitos de los siguientes ensayos.

Fosfato (Ensayo para reactivos) - Cortar 5 tiras en piezas pequeñas, mezclar con 500 mg de nitrato

de magnesio en un crisol de porcelana y someter a ignición. Agregar al residuo 5 ml de ácido nítrico y evaporar hasta sequedad: el residuo no presenta más de 0,02 mg de PO₄.

Residuo de ignición - Someter a ignición cuidadosamente 10 tiras del papel hasta peso constante: el peso del residuo corresponde a no más de 0,4 mg por tira de aproximadamente 3 cm².

Ácidos de colofonia - Sumergir una tira del papel azul en una solución de 100 mg de nitrato de plata en 50 ml de agua: el color del papel no cambia en 30 segundos.

Sensibilidad - Dejar caer una tira de 10 a 12 mm en un vaso de precipitados que contenga 100 ml de ácido 0,0005 N y agitar continuamente: el color del papel cambia dentro de los 45 segundos. El ácido 0,0005 N se prepara diluyendo 1 ml de ácido clorhídrico 0,1 N con agua purificada hervida recientemente y enfriada a 200 ml.

Papel de tornasol rojo - Generalmente de un tamaño aproximado de 6 mm × 50 mm. El papel de tornasol rojo cumple con los requisitos de los ensayos para *Fosfato*, *Residuo de ignición* y *Ácidos de colofonia* en Papel de tornasol azul.

Sensibilidad - Dejar caer una tira de 10 a 12 mm en un vaso de precipitados que contenga 100 ml de hidróxido de sodio 0,0005 N y agitar continuamente: el color del papel cambia dentro de los 30 segundos. El hidróxido de sodio 0,0005 N es preparado diluyendo 1 ml de hidróxido de sodio 0,1 N con agua purificada recientemente hervida y enfriada a 200 ml.

Papel indicador de pH de intervalo corto - Emplear uno grado apropiado.

SOLUCIONES

Soluciones Reguladoras

Muchos ensayos y valoraciones de este compendio requieren el ajuste o mantenimiento de un pH especificado mediante el agregado de soluciones reguladoras. En las mediciones de pH, las soluciones reguladoras estándar son necesarias como referencia. La preparación de estas soluciones, en algunos casos, están descritas en las secciones en las cuales su empleo se especifica; por ej., en <770>. *Valoración microbiológica de antibióticos* se describe la preparación de varias soluciones reguladoras de fosfato.

Se dice que una solución está regulada si resiste cambios en la actividad de un ion con el agregado de sustancias que se supone cambian la actividad de ese ion. Las soluciones reguladas son sistemas en los que el ion está en equilibrio con sustancias capaces de atraparlo o liberarlo.

La capacidad de la solución reguladora está relacionada con la cantidad de material que puede agregarse a una solución sin causar un cambio significativo en la actividad del ion. Se define como la relación entre la cantidad de ácido o base agregados (en equivalentes g por litro) y el cambio en pH (en unidades de pH).

Las soluciones reguladoras se emplean para establecer y mantener una actividad iónica dentro de límites estrechos. Los sistemas más empleados son para: (a) establecer la actividad del ion hidrógeno para la calibración de medidores de pH, (b) la preparación de formas farmacéuticas isotónicas, (c) procedimientos analíticos y (d) mantener la estabilidad de diversas formas farmacéuticas. Las soluciones reguladoras empleadas en sistemas fisiológicos se eligen cuidadosamente de modo que no interfieran con la actividad farmacológica del medicamento o la función normal del organismo. Es esencial que las soluciones reguladoras empleadas en los análisis químicos sean compatibles con la sustancia a determinar y los reactivos empleados.

Soluciones reguladoras estándar

Las soluciones estándar de pH definido pueden obtenerse fácilmente a partir de soluciones reguladoras preparadas con reactivos apropiados. Además, pueden obtenerse comercialmente.

Los reactivos requeridos se describen en *Especificaciones de reactivos*. Secar previamente los reactivos cristalinos, excepto el ácido bórico, entre 110 y 120 °C durante 1 hora.

[NOTA: cuando se especifica agua para disolver o diluir las sustancias bajo ensayo en determinaciones de pH, emplear agua].

Almacenar las soluciones preparadas en envases químicamente resistentes de cierre perfecto como por ej., envases de vidrio Tipo I. Emplear las soluciones dentro de los 3 meses de preparadas.

Soluciones reguladoras estándar para diversos intervalos entre pH 1,2 y 10,0 pueden ser preparadas por combinaciones apropiadas de las soluciones 0,2 M descritas aquí, empleando las proporciones especificadas en las tablas siguientes. Los volúmenes dados en las tablas son para preparar 200 ml de solución reguladora.

1- *Ácido clorhídrico 0,2 M e Hidróxido de sodio 0,2 M* - Proceder según se indica en *Soluciones volumétricas*.

2- *Biftalato de potasio 0,2 M* - Disolver 40,85 g de biftalato de potasio $[\text{KHC}_6\text{H}_4(\text{COO})_2]$ en agua y diluir con agua a 1 litro.

3- *Fosfato monobásico de potasio 0,2 M* - Disolver 27,22 g de fosfato monobásico de potasio (KH_2PO_4) en agua y diluir con agua a 1 litro.

4- *Ácido bórico y cloruro de potasio 0,2 M* - Disolver 12,37 g de ácido bórico (H_3BO_3) y 14,91 g de cloruro de potasio (KCl) en agua y diluir con agua a 1 litro.

5- *Cloruro de potasio 0,2 M* - Disolver 14,91 g de cloruro de potasio (KCl) en agua y diluir con agua a 1 litro.

6- *Ácido acético 2 N* - Proceder según se indica en *Soluciones volumétricas*.

Composición de las soluciones reguladoras estándar

Solución reguladora de ácido clorhídrico -

Transferir 50 ml de la solución de cloruro de potasio a un matraz aforado de 200 ml, agregar el volumen especificado de la solución de ácido clorhídrico y completar a volumen con agua.

pH	ClH (ml)
1,2	85,0
1,3	67,2
1,4	53,2
1,5	41,4
1,6	32,4
1,7	26,0
1,8	20,4
1,9	16,2
2,0	13,0
2,1	10,2
2,2	7,8

Solución reguladora de ftalato -

Transferir 50 ml de la solución de biftalato de potasio a un matraz aforado de 200 ml, agregar el volumen especificado de la solución de ácido clorhídrico y completar a volumen con agua.

pH	ClH (ml)
2,2	49,5
2,4	42,2
2,6	35,4
2,8	28,9
3,0	22,3
3,2	15,7
3,4	10,4
3,6	6,3
3,8	2,9
4,0	0,1

Solución reguladora de ftalato neutralizada -

Transferir 50 ml de la solución de biftalato de potasio a un matraz aforado de 200 ml, agregar el volumen especificado de la solución de hidróxido de sodio y completar a volumen con agua

pH	NaOH (ml)
4,2	3,0
4,4	6,6
4,6	1,1
4,8	6,5
5,0	22,6
5,2	28,8
5,4	34,1
5,6	38,8
5,8	42,3

Solución reguladora de fosfato -

Transferir 50 ml de la solución de fosfato monobásico de potasio a un matraz aforado de 200 ml, agregar el volumen especificado de la solución de hidróxido de sodio y completar a volumen con agua.

pH	NaOH (ml)
5,8	3,6
6,0	5,6
6,2	8,1
6,4	11,6
6,6	16,4
6,8	22,4
7,0	29,1
7,2	34,7
7,4	39,1
7,6	42,4
7,8	44,5
8,0	46,1

Solución reguladora alcalina de borato -

Transferir 50 ml de la solución de ácido bórico y de cloruro de potasio a un matraz aforado de

200 ml, agregar el volumen especificado de la solución de hidróxido de sodio y completar a volumen con agua.

pH	NaOH (ml)
8,0	3,9
8,2	6,0
8,4	8,6
8,6	11,8
8,8	15,8
9,0	20,8
9,2	26,4
9,4	32,1
9,6	36,9
9,8	40,6
10,0	43,7

Solución reguladora de acetato -

Transferir la cantidad especificada de acetato de sodio ($\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) a un matraz aforado de 1 litro, agregar el volumen especificado de la solución de ácido acético y completar a volumen con agua.

pH	pH (medido)	$\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (g)	CH_3COOH (ml)
4,1	4,10	1,50	19,5
4,3	4,29	1,99	17,7
4,5	4,51	2,99	14,0
4,7	4,70	3,59	11,8
4,9	4,90	4,3	49,1
5,1	5,11	5,08	6,3
5,2	5,18	5,23	5,8
5,3	5,30	5,61	4,4
5,4	5,40	5,76	3,8
5,5	5,48	5,98	3,0

SOLUCIONES COLORIMÉTRICAS (SC)

Estas soluciones se emplean en la preparación de los estándares colorimétricos para ciertos principios activos y para el ensayo de carbonización con ácido sulfúrico que se especifica en varias monografías (ver 350. *Ensayo de sustancias fácilmente carbonizables*). Almacenar las soluciones en envases apropiadamente resistentes, de cierre perfecto.

La comparación de colores tal como se indica en los ensayos de este compendio se hace preferentemente en tubos de Nessler armonizados o en un colorímetro apropiado bajo condiciones que aseguren que la solución colorimétrica de referencia y la de la muestra se tratan en forma similar. Los tubos deben contener el mismo volumen de solución y observarse transversalmente contra un fondo blanco. Es particularmente importante que las soluciones se comparen a la misma temperatura, preferentemente 25 °C.

Cloruro cobaltoso (SC) - Disolver aproximadamente 65 g de cloruro cobaltoso ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) en cantidad suficiente de una mezcla de 25 ml de ácido clorhídrico y 975 ml de agua para obtener 1 litro. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz de iodo de 250 ml, agregar 5 ml de peróxido de hidrógeno (SR) y 15 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 5), calentar a ebullición durante 10 minutos, enfriar y agregar 2 g de ioduro de potasio y 20 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 4). Cuando se ha disuelto el precipitado, titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 23,79 mg de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Ajustar el volumen final de la solución mediante el agregado de suficiente cantidad de la mezcla de ácido clorhídrico y agua para que cada ml contenga a 59,5 mg de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

Cloruro férrico (SC) - Disolver aproximadamente 55 g de cloruro férrico ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) en suficiente cantidad de una mezcla de 25 ml de ácido clorhídrico y 975 ml de agua para obtener 1 litro. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz de iodo de 250 ml, agregar 15 ml de agua, 3 g de ioduro de potasio y 5 ml de ácido clorhídrico y dejar que la mezcla repose durante 15 minutos. Diluir con 100 ml de agua y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 27,03 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Ajustar el volumen final de la solución mediante el agregado de suficiente cantidad de la mezcla de ácido clorhídrico y agua para que cada ml contenga a 45,0 mg de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

Sulfato cúprico (SC) - Disolver aproximadamente 65 g de sulfato cúprico ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) en suficiente cantidad de una mezcla de 25 ml de ácido clorhídrico y 975 ml de agua para obtener 1 litro. Transferir 10 ml de esta solución a un matraz de iodo de 250 ml, agregar 40 ml de agua, 4 ml de ácido acético, 3 g de ioduro de potasio y 5 ml de ácido clorhídrico y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) como indicador. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada mililitro de tiosulfato de sodio 0,1 N equivale a 24,97 mg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Ajustar el volumen final de la solución mediante el agregado de suficiente cantidad de la mezcla de ácido clorhídrico y agua para que cada ml contenga a 62,4 mg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

SOLUCIONES INDICADORAS

Soluciones indicadoras ver *Soluciones de reactivos*

SOLUCIONES DE REACTIVOS (SR)

Algunas de las siguientes soluciones de reactivos están destinadas a emplearse como indicadores en el análisis volumétrico ácido-base. Tales soluciones deben ajustarse de modo que, cuando 0,15 ml de la solución indicadora se agregan a 25 ml de agua, 0,25 ml de ácido o álcali 0,02 N, respectivamente, producirá el cambio de color característico. Soluciones similares están destinadas a ser empleadas en mediciones de pH. Cuando no se dan indicaciones especiales para su preparación, la misma solución es apropiada para ambos fines.

Cuando se indica el empleo de una solución volumétrica como solución de reactivo, la estandarización de la solución empleada como "SR" no es necesaria.

En general, la directiva para preparar una solución "en el día de su uso" indica que la solución es de estabilidad limitada y debe prepararse en el día en el que se la va a emplear.

Para la preparación de *Soluciones de reactivos*, emplear reactivos de la calidad especificada en *Especificaciones de Reactivos*.

Acetaldehído (SR) - Mezclar 4 ml de acetaldehído, 3 ml de alcohol y 1 ml de agua. Preparar esta solución en el día de su uso.

Acetato cúprico (SR) - Disolver 100 mg de acetato cúprico en aproximadamente 5 ml de agua a la cual se le ha agregado unas pocas gotas de ácido acético. Diluir a 100 ml y filtrar, si fuera necesario.

Acetato cúprico fuerte (SR) - (*Reactivo de Barfoed*) - Disolver 13,3 g de acetato cúprico en una mezcla de 195 ml de agua y 5 ml de ácido acético.

Acetato de amonio (SR) - Disolver 10 g de acetato de amonio en agua para obtener 100 ml.

Acetato de amonio (SR1) - Disolver 150 g de acetato de amonio en agua, agregar 3 ml de ácido acético glacial y diluir con agua a 1 litro. Conservar durante no más de 1 semana.

Acetato de dicitohexilamina (SR) - Disolver 50 g de dicitohexilamina en 150 ml de acetona, enfriar en un baño de hielo y agregar, con agitación, una solución de 18 ml de ácido acético glacial en 150 ml de acetona. Recristalizar el precipitado formado, calentando la mezcla a ebullición y dejándola enfriar en un baño de hielo, recolectar los cristales en un embudo filtrante, lavar con un volumen pequeño de acetona y secar al aire. Disolver

300 mg del acetato diciclohexilamina obtenido en 200 ml de una mezcla de cloroformo y éter saturado con agua (6:4). Emplear de inmediato.

Acetato de fenilhidracina (SR) - Disolver 10 ml de fenilhidracina y 5 ml de ácido acético glacial en agua para obtener 100 ml.

Acetato de mercurio (SR) - Disolver 3,19 g de acetato de mercurio (II) en ácido acético glacial, diluir a 100 ml con el mismo solvente. Neutralizar la solución si fuera necesario con ácido perclórico 0,1 N en presencia de 0,05 ml de cristal violeta (SR).

Acetato de plomo (SR) - Disolver 9,5 g de cristales claros, transparentes de acetato de plomo en agua recientemente hervida para obtener 100 ml. Almacenar en botellas de cierre perfecto.

Acetato de plomo alcohólico (SR) - Disolver 2 g de cristales transparentes de acetato de plomo en alcohol para obtener 100 ml. Almacenar en envases de cierre perfecto.

Acetato de potasio (SR) - Disolver 10 g de acetato de potasio en agua para obtener 100 ml.

Acetato de sodio (SR) - Disolver 13,6 g de acetato de sodio en agua para obtener 100 ml.

Acetato de uranilo y cinc (SR) - Disolver 50 g de acetato de uranilo en una mezcla de 15 ml de ácido acético glacial y agua para obtener 500 ml. Luego disolver 150 g de acetato de cinc en una mezcla de 15 ml de ácido acético glacial y agua para obtener 500 ml. Mezclar las dos soluciones, dejar reposar durante toda la noche y filtrar a través de un filtro seco, si fuera necesario.

Acetato de uranilo y cobalto (SR) - Disolver, calentando, 40 g de acetato de uranilo en una mezcla de 30 g de ácido acético glacial y agua suficiente para obtener 500 ml. En forma similar, preparar una solución que contenga 200 g de acetato cobaltoso en una mezcla de 30 g de ácido acético glacial y agua suficiente para obtener 500 ml. Mezclar las dos soluciones aún calientes y enfriar a 20 °C. Mantener la temperatura a 20 °C durante aproximadamente 2 horas para separar el exceso de sales de la solución y luego filtrar a través de un filtro seco.

Acetato mercúrico (SR) - Disolver 6,0 g de acetato mercúrico en ácido acético glacial para obtener 100 ml. Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto.

Acetato mercúrico (SR1) - Disolver 3,19 g de acetato mercúrico en ácido acético glacial y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Neutralizar la solución, si es necesario con ácido perclórico 0,1 M en presencia de 0,05 ml de cristal violeta (SR).

Acetona regulada (SR) - Disolver 8,15 g de acetato de sodio y 42 g de cloruro de sodio en aproximadamente 100 ml de agua y agregar 68 ml de ácido clorhídrico 0,1 N y 150 ml de acetona. Mezclar y diluir con agua a 500 ml.

Ácido acético glacial (SR) - Determinar el contenido de agua de una muestra de ácido acético glacial por *Titulación volumétrica directa* (ver 120. *Determinación de agua*). Si el ácido contiene más de 0,05 % de agua, agregar unos pocos ml de anhídrido acético, mezclar, dejar reposar de la noche a la mañana, y nuevamente determinar el contenido de agua. Si el ácido contiene menos de 0,02 % de agua, agregar agua suficiente para obtener una concentración final entre 0,02 y 0,05 %, mezclar, dejar reposar de la noche a la mañana y nuevamente determinar el contenido de agua. Repetir el ajuste con anhídrido acético o agua, según sea necesario, hasta que la solución resultante contenga entre 0,02 y 0,05 % de agua.

Ácido aminonaftolsulfónico (SR) - Pesar exactamente 5 g de sulfito de sodio, 94,3 g de bisulfito de sodio y 700 mg de ácido 1,2,4-aminonaftolsulfónico y mezclar. Preparar ácido aminonaftolsulfónico (SR) el día de uso disolviendo 1,5 g de la mezcla seca en 10 ml de agua.

Ácido cromotrópico (SR) - Disolver 50 mg de ácido cromotrópico o su sal sódica en 100 ml de ácido sulfúrico al 75 %, preparado agregando cuidadosamente 75 ml de ácido sulfúrico a 33,3 ml de agua.

Ácido diazobencenosulfónico (SR) - Transferir 1,57 g de ácido sulfanílico, previamente secado a 105°C durante 3 horas, a un vaso de precipitados, agregar 80 ml de agua y 10 ml de ácido clorhídrico diluido y calentar en un baño de vapor hasta disolver. Enfriar a 15 °C (se puede separar algo del ácido sulfanílico pero se disuelve posteriormente) y agregar lentamente, con agitación constante, 6,5 ml de solución de nitrito de sodio (1 en 10). Luego diluir con agua a 100 ml.

Ácido fenoldisulfónico (SR) - Disolver 2,5 g de fenol en 15 ml de ácido sulfúrico en un matraz apropiado. Agregar 7,5 ml de ácido sulfúrico fumante, agitar y calentar a 100 °C durante 2 horas. Transferir el producto, mientras permanece líquido, a una botella con tapón de vidrio y, si fuera necesario, calentar en un baño de agua hasta licuarlo.

Ácido fosfomolibdico (SR) - Disolver 20 g de ácido fosfomolibdico en alcohol para obtener 100 ml. Filtrar la solución y emplear sólo el filtrado transparente.

Ácido fosfotúngstico (SR) - Disolver 1 g de ácido fosfotúngstico en agua para obtener 100 ml.

Ácido metafosfórico - ácido acético (SR) - Disolver 15 g de ácido metafosfórico en 40 ml de ácido acético glacial y agua suficiente para obtener 500 ml. Almacenar en un sitio frío y emplear dentro de los 2 días de preparado.

Ácido oxálico (SR) - Disolver 6,3 g de ácido oxálico en agua para obtener 100 ml.

Ácido perclórico (SR) - Diluir 8,5 ml de ácido perclórico a 100 ml con agua.

Ácido pícrico (SR) - Ver Trinitrofenol (SR).

Ácido pícrico (SR1) - Preparar 100 ml de una solución saturada de ácido pícrico y agregar 0,25 ml de hidróxido de sodio al 42 % p/v.

Ácido sulfanílico (SR) - Disolver 800 mg de ácido sulfanílico en 100 ml de ácido acético. Almacenar en envases de cierre perfecto.

Ácido sulfanílico diazotado (SR) - Disolver, calentando, 0,9 g de ácido sulfanílico en 9 ml de ácido clorhídrico y diluir con agua a 100 ml. Enfriar 10 ml de esta solución en agua helada y agregar 10 ml de una solución de nitrito de sodio (4,5 en 100) previamente enfriada en agua helada. Dejar reposar a 0 °C durante por lo menos 15 minutos (la solución se puede mantener durante 3 días a esta temperatura). Inmediatamente antes de usar, agregar 20 ml de solución de carbonato de sodio (1 en 10).

Ácido sulfomolibdico (SR) - Disolver, calentando, 2,5 g de molibdato de amonio en 20 ml de agua, agregar 50 ml de ácido sulfúrico 12 N y diluir con agua a 100 ml. Almacenar esta solución en un envase de polietileno.

Ácido sulfúrico (SR) - Agregar una cantidad de ácido sulfúrico de concentración conocida a un volumen de agua suficiente para ajustar la concentración final entre 94,5 y 95,5 % (p/p) de H₂SO₄. [NOTA: debido a que la concentración de ácido puede cambiar con el tiempo o con el uso, la concentración debe controlarse con frecuencia y las soluciones cuya valoración indique más de 95,5 o menos de 94,5 % deben ser descartadas].

Ácido sulfúrico - formaldehído (SR) - Agregar 1 gota de formaldehído (SR) por cada ml de ácido sulfúrico y mezclar. Preparar esta solución antes de usar.

Ácido tánico (SR) - Disolver 1 g de ácido tánico en 1 ml de alcohol y diluir con agua a 10 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Ácido tartárico (SR) - Disolver 3 g de ácido tartárico en agua para obtener 10 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Ácido p - toluensulfónico (SR) - Disolver 2 g de ácido *p*-toluensulfónico en 10 ml de una mezcla de acetona y agua (7:3).

Albúmina (SR) - Separar cuidadosamente la clara de la yema de un huevo de gallina fresco. Agitar la clara con 100 ml de agua hasta obtener una mezcla homogénea y filtrar. Preparar la solución en el día de su uso.

Alcohol - fenol (SR) - Disolver 780 mg de fenol en alcohol para obtener 100 ml.

Alizarinsulfonato sódico (SR) - Disolver 100mg de alizarinsulfonato sódico en 100 ml de agua y filtrar.

Almidón (SR) - Mezclar 1 g de almidón soluble con 10 mg de yoduro mercúrico rojo y agua fría suficiente para obtener una pasta fina. Agregar 200 ml de agua a ebullición y calentar durante 1 minuto a ebullición con agitación continua. Enfriar y emplear sólo la solución transparente. [NOTA: pueden emplearse soluciones indicadoras de almidón estabilizadas, disponibles comercialmente].

Almidón - yoduro de potasio (SR) - Disolver 500 mg de yoduro de potasio en 100 ml de almidón (SR) recientemente preparado. Preparar esta solución antes de usar.

Almidón - yoduro de potasio (SR1) - Disolver 750 mg de yoduro de potasio en 100 ml de agua, calentar a ebullición y agregar una solución de 0,5 g de almidón en 35 ml de agua, en agitación constante. Calentar a ebullición durante 2 minutos y dejar enfriar.

Prueba para sensibilidad - A 15 ml de Almidón - yoduro de potasio (SR1), agregar 0,05 ml de ácido acético glacial y 0,3 ml de una solución de yodo preparada disolviendo 10 ml de yodo 0,05 M con 0,6 g de yoduro de potasio, en 1 litro. La solución obtenida debe ser azul.

Amaranto (SR) - Disolver 20 mg de amaranto en 10 ml de agua.

Amarillo de metilo (SR) - Diluir con alcohol una solución madre comercialmente disponible de amarillo de metilo en alcohol para obtener una solución con una concentración de 0,10 mg por ml.

Amarillo de metilo-azul de metileno (SR) - Disolver 1 g de amarillo de metilo y 100 mg de azul de metileno en 125 ml de metanol.

Aminoacetato de sodio (SR) - (*Glicinato de sodio (SR)*) - Disolver 3,75 g de ácido aminoacético

co en aproximadamente 500 ml de agua, agregar 2,1 g de hidróxido de sodio y diluir con agua a 1 litro. Mezclar 9 ml de la solución resultante con 1 ml de ácido acético glacial diluido (1 en 300). La solución de ensayo posee un pH entre 10,4 y 10,5.

Aminopirazolona (SR) - Disolver 1 g de aminopirazolona en 1 litro de solución reguladora alcalina de borato pH 9,0 (ver *Soluciones reguladoras*).

Amoniaco (SR) - Contiene entre 9,5 y 10,5 % de NH₃. Preparar diluyendo 400 ml de *Agua de Amoniaco fuerte* con agua hasta obtener 1 litro.

Amoniaco alcohólico (SR) - Solución de amoniaco gaseoso en alcohol. Líquido transparente, incoloro con olor fuerte a amoniaco. Densidad relativa: aproximadamente 0,80. Contiene entre 9 y 11 % de NH₃. Almacenarlo en envases resistentes a los álcalis, en un sitio frío.

Amoniaco - cianuro (SR) - Disolver 2 g de cianuro de potasio en 15 ml de hidróxido de amonio y diluir con agua a 100 ml.

Amoniaco concentrado (SR) - Emplear *Agua de Amoniaco Fuerte*.

Anisaldehído (SR) - Mezclar en el siguiente orden 10 ml de anisaldehído, 90 ml de alcohol y 10 ml de ácido sulfúrico.

Anisaldehído (SR1) - Mezclar en el siguiente orden 0,5 ml de anisaldehído, con 10 ml de ácido acético glacial, 85 ml de metanol y 5 ml de ácido sulfúrico.

Anisaldehído - sulfúrico (SR) - Mezclar 0,5 ml de anisaldehído con 10 ml de acetato de mercurio, agregar 85 ml de metanol y 5 ml de ácido sulfúrico concentrado.

Antrona (SR) - 12 horas antes de usar, disolver rápidamente 35 mg de antrona en una mezcla caliente de 35 ml de agua y 65 ml de ácido sulfúrico. De inmediato enfriar en un baño de hielo a temperatura ambiente y filtrar a través de lana de vidrio. Dejar la solución en reposo a temperatura ambiente durante 30 minutos antes de usar.

Azometino H - Disolver 0,45 g de Azometino H y 1 g de ácido ascórbico en agua, calentando suavemente y diluir a 100 ml.

Azul brillante G (SR) - Transferir 25 mg de azul brillante G a un matraz aforado de 100 ml, agregar 12,5 ml de alcohol y 25 ml de ácido fosfórico, completar a volumen con agua y mezclar.

Azul de bromocresol (SR) - Ver Verde de bromocresol (SR).

Azul de bromofenol (SR) - Disolver 100 mg de azul de bromofenol en 100 ml de alcohol diluido y filtrar si fuera necesario.

Azul de bromofenol (SR1) - Calentar 200 mg de azul de bromofenol en 3 ml de hidróxido de sodio 0,1 N y 10 ml de alcohol. Una vez disuelto dejar enfriar y diluir a 100 ml con alcohol.

Azul de bromofenol (SR2) - Calentar 50 mg de azul de bromofenol en 3,73 ml de hidróxido de sodio 0,02 N. Una vez disuelto dejar enfriar y diluir a 100 ml con agua.

Azul de bromotimol (SR) - Disolver 100 mg de azul de bromotimol en 100 ml de alcohol diluido y filtrar si fuera necesario.

Azul de bromotimol (SR1) - Disolver 50 mg de azul de bromotimol en una mezcla de 4 ml de hidróxido de sodio 0,02 N y de 20 ml de alcohol y completar a 100 ml con agua.

Azul de metileno (SR) - Disolver 125 mg de azul de metileno en 100 ml de alcohol y diluir con alcohol a 250 ml.

Azul de Oracet B (SR) - Corresponde a una solución 1 en 200 de azul de oracet B en ácido acético glacial.

Azul de tetrazolio (SR) - Disolver 500 mg de azul de tetrazolio en alcohol para obtener 100 ml.

Azul de timol (SR) - Disolver 100 mg de azul de timol en 100 ml de alcohol y filtrar si fuera necesario.

Azul de timol (SR1) - Disolver 0,1 g de azul de timol en una mezcla de 2,2 ml de hidróxido de sodio 0,1 N y 20 ml de alcohol. Diluir a 100 ml con agua.

Prueba para sensibilidad - A 0,1 ml de esta solución, agregar 100 ml de agua libre de dióxido de carbono y 0,2 ml de hidróxido de sodio 0,02 N (SV): la solución debe ser azul. El viraje de indicador al amarillo no debe consumir más de 0,1 ml de ácido clorhídrico 0,02 N (SV).

Zonas de viraje - De pH 1,2 (rojo) a pH 2,8 (amarillo); de pH 8,0 (verde oliva) a pH 9,6 (azul).

Azul nilo (SR) - Emplear una solución con una concentración de 10 g por litro en ácido acético glacial.

Prueba para sensibilidad - A 50 ml de ácido acético glacial agregar 0,25 ml Azul nilo (SR). La solución debe ser azul. Agregar 0,1 ml ácido perclórico 0,1 M: el color cambia a un verde azulado.

Cambio de color - pH 9,0 (azul) a pH 13,0 (rojo).

Betanaftol (SR) - Ver 2-Naftol (SR).

Bisbenzimidazol (SR) - Disolver 5 mg de bisbenzimidazol en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Proteger de la luz.

Bisbenzimidazol diluido (SR) - Transferir 100 µl de Bisbenzimidazol (SR) a una matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con Solución reguladora fosfato salina pH 7,4. Preparar inmediatamente antes de su uso.

Bisulfato de sodio (SR) - Disolver 10 g de bisulfato de sodio en agua para obtener 30 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Bitartrato de sodio (SR) - Disolver 1 g de bitartrato de sodio en agua para obtener 10 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Bromo (SR) - (*Agua de bromo*) - Una solución saturada de bromo, preparada agitando 2 a 3 ml de bromo con 100 ml de agua fría en una botella con tapón de vidrio, el cual debe lubricarse con vaselina. Almacenar en envases inactivos, en un sitio frío.

Bromo (SR1) - Disolver 30 g de bromo y 30 g de bromuro de potasio en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente.

Bromo - acetato de sodio (SR) - Disolver 100 g de acetato de sodio en 1 litro de ácido acético glacial, agregar 50 ml de bromo y mezclar.

p-Bromoanilina (SR) - Agregar 8 g de p-bromoanilina a una mezcla de 380 ml de ácido acético glacial saturado con tiourea, 10 ml de solución de cloruro de sodio (1 en 5), 5 ml de solución de ácido oxálico (1 en 20) y 5 ml de solución de fosfato dibásico de sodio (1 en 10) en una botella de vidrio inactivo. Mezclar y dejar reposar de la noche a la mañana antes de usar. Proteger de la luz y emplear dentro de los 7 días.

Bromuro de cianógeno (SR) - Agregar gota a gota con enfriamiento tiocianato de amonio 0,1 M a agua de bromo hasta que el color desaparezca. Preparar en el momento de su uso.

Bromuro de iodo (SR) - Disolver 20 g de bromuro de iodo en ácido acético glacial para obtener 1 litro. Almacenar en envases de vidrio inactivo.

Bromuro mercúrico alcohólico (SR) - Disolver 5 g de bromuro mercúrico en 100 ml de alcohol, calentando suavemente para facilitar la disolución. Almacenar en envases de vidrio inactivo.

Carbonato de amonio (SR) - Disolver 20 g de carbonato de amonio y 20 ml de amoníaco (SR) en agua para obtener 100 ml.

Carbonato de potasio (SR) - Disolver 7 g de carbonato de potasio anhidro en agua para obtener 100 ml.

Carbonato de sodio (SR) - Disolver 10,6 g de carbonato de sodio anhidro en agua para obtener 100 ml.

Citrato cúprico alcalino (SR) - Disolver, calentando, 173 g de citrato de sodio dihidratado y 117 g de carbonato de sodio monohidratado en aproximadamente 700 ml de agua y filtrar a través de papel, si fuera necesario, para obtener una solución transparente. En un envase separado, disolver 17,3 g de sulfato cúprico en aproximadamente 100 ml de agua y lentamente agregar esta solución, con agitación constante, a la primera solución. Enfriar la mezcla, agregar agua para obtener 1 litro y mezclar.

Clorhidrato de hidroxilamina (SR) - Disolver 3,5 g de clorhidrato de hidroxilamina en 95 ml de alcohol al 60 % y agregar 0,5 ml de solución azul de bromofenol (1 en 1000) e hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N hasta que se desarrolle un tinte verdoso en la solución. Luego agregar alcohol al 60 % hasta obtener 100 ml.

Clorhidrato de metafenilendiamina (SR) - Disolver 1 g de clorhidrato metafenilendiamina en 200 ml de agua. La solución debe ser incolora cuando se emplea. Si fuera necesario, decolorar calentando con carbón activado.

Clorhidrato de 3-metil-2-benzotiazolinona hidrazona (SR) - Disolver 100 mg de clorhidrato de 3-metil-2-benzotiazolinona hidrazona monohidrato en 10 ml de agua, diluir la solución resultante con metanol a 100 ml y mezclar.

Cloro (SR) - (*Agua de cloro*) - Una solución saturada de cloro en agua. Transferir la solución en envases pequeños, completamente llenos, resistentes a la luz. Esta solución, aun cuando está protegida de la luz y el aire, suele deteriorarse. Almacenar en un sitio frío, oscuro. Para obtener la concentración más alta, preparar esta solución en el día de su uso.

Cloroformo acidificado (SR) - A 100 ml de cloroformo, agregar 10 ml de ácido clorhídrico. Agitar, dejar reposar y separar las dos fases.

Cloruro cobaltoso (SR) - Disolver 2 g de cloruro cobaltoso en 1 ml de ácido clorhídrico y agua suficiente para obtener 100 ml.

Cloruro de amonio (SR) - Disolver 10,5 g de cloruro de amonio en agua para obtener 100 ml.

Cloruro de amonio-hidróxido de amonio (SR) - Mezclar volúmenes iguales de agua e hidróxido de amonio y saturar con cloruro de amonio.

Cloruro de bario (SR) - Disolver 12 g de cloruro de bario en agua para obtener 100 ml.

Cloruro de calcio (SR) - Disolver 7,5 g de cloruro de calcio en agua para obtener 100 ml.

Cloruro de cinc iodado (SR) - Disolver 20 g de cloruro de cinc y 6,5 g de ioduro de potasio en 10,5 ml de agua. Agregar 0,5 g de yodo y agitar durante 15 minutos.

Cloruro de iodo (SR) - Disolver 16,5 g de monoclóruo de iodo en 1 litro de ácido acético glacial.

Cloruro de metileno acidificado (SR) - A 100 ml de cloruro de metileno, agregar 10 ml de ácido clorhídrico. Agitar, dejar reposar la solución y separar las dos fases. Emplear la fase inferior.

Cloruro de oro (SR) - Disolver 1 g de cloruro de oro en 35 ml de agua.

Cloruro de paladio regulado (SR) - Pesar 500 mg de cloruro de paladio en un vaso de precipitados de 250 ml, agregar 5 ml de ácido clorhídrico concentrado y calentar la mezcla en un baño de vapor. Agregar 200 ml de agua caliente en porciones pequeñas con calentamiento continuo hasta que la disolución se complete. Transferir la solución a un matraz aforado de 250 ml y completar a volumen con agua. Transferir 50 ml a un matraz aforado de 100 ml. Agregar 10 ml de acetato de sodio 1 M y 9,6 ml de ácido clorhídrico 1 N. Completar a volumen con agua.

Cloruro de sodio alcalino (SR) - Disolver 2 g de hidróxido de sodio en 100 ml de agua, saturar la solución con cloruro de sodio y filtrar.

Cloruro de trifeniltetrazolio (SR) - Disolver 500 mg de cloruro de trifeniltetrazolio en alcohol absoluto para obtener 100 ml.

Cloruro estañoso (SR) - Disolver 8 g de cloruro estañoso en 500 ml de ácido clorhídrico. Almacenar en envases de vidrio y emplear dentro de los 3 meses de preparado.

Cloruro estañoso concentrado (SR) - Disolver 40 g de cloruro estañoso en 100 ml de ácido clorhídrico. Almacenar en envases de vidrio y emplear dentro de los 3 meses de preparado.

Cloruro férrico (SR) - Disolver 9 g de cloruro férrico en agua para obtener 100 ml.

Cloruro férrico ácido (SR) - Mezclar 60 ml de ácido acético glacial con 5 ml de ácido sulfúrico,

agregar 1 ml de cloruro férrico (SR), mezclar y enfriar.

Cloruro férrico-ácido sulfámico (SR) - Preparar una solución que contenga 10 g por litro de cloruro férrico y 16 g por litro de ácido sulfámico.

Cloruro mercúrico (SR) - Disolver 6,5 g de cloruro mercúrico en agua para obtener 100 ml.

Cloruro platínico (SR) - Disolver 2,6 g de cloruro platínico en agua para obtener 20 ml.

Cobaltonitrito de sodio (SR) - Disolver 10 g de cobaltonitrito de sodio en agua para obtener 50 ml y filtrar si fuera necesario.

Colorante de Mallory - Disolver 500 mg de azul de anilina soluble en agua, 2 g de naranja G y 2 g de ácido oxálico en 100 ml de agua.

Cristal violeta (SR) - Disolver 100 mg de cristal violeta en 10 ml de ácido acético glacial.

Cromato de potasio (SR) - Disolver 10 g de cromato de potasio en agua para obtener 100 ml.

Diclorhidrato de N-(1-naftil)etilendiamina (SR) - Disolver 100 mg de diclorhidrato de N-(1-naftil)etilendiamina en 100 ml de una mezcla de acetona y agua (7:3).

Diclorofluoresceína (SR) - Disolver 100 mg de diclorofluoresceína en 60 ml de alcohol, agregar 2,5 ml de hidróxido de sodio 0,1 N, mezclar y diluir con agua a 100 ml.

Dicromato de potasio (SR) - Disolver 7,5 g de dicromato de potasio en agua para obtener 100 ml.

Dietilditiocarbamato de plata (SR) - Disolver 1 g de dietilditiocarbamato de plata en 200 ml de piridina recientemente destilada. Almacenar en envases resistentes a la luz y emplear dentro de los 30 días.

Difenilamina (SR) - Disolver 1,0 g de difenilamina en 100 ml de ácido sulfúrico. La solución debe ser incolora.

Difenilcarbazona (SR) - Disolver 1 g de difenilcarbazona en cristales en 75 ml de alcohol, luego agregar alcohol para obtener 100 ml. Almacenar en una botella oscura.

2,7-Dihidroxinaftaleno (SR) - Disolver 100 mg de 2,7-dihidroxinaftaleno en 1 litro de ácido sulfúrico y dejar reposar la solución hasta que el color amarillo desaparezca. Si la solución es muy oscura, descartarla y preparar una solución nueva con ácido sulfúrico de distinta procedencia. Esta solución es estable durante aproximadamente 1 mes si se almacena en una botella de material inactivo.

Diiodofluoresceína (SR) - Disolver 500 mg de diiodofluoresceína en una mezcla de 75 ml de alcohol y 30 ml de agua.

p-Dimetilaminobenzaldehído (SR) - Disolver 125 mg de p-dimetilaminobenzaldehído en una mezcla enfriada de 65 ml de ácido sulfúrico y 35 ml de agua y agregar 0,05 ml de cloruro férrico (SR). Emplear dentro de los 7 días de preparada.

Dinitrofenilhidracina (SR) - Mezclar cuidadosamente 10 ml de agua y 10 ml de ácido sulfúrico y enfriar. A la mezcla, contenida en un erlenmeyer con tapón de vidrio, agregar 2 g de 2,4- dinitrofenilhidracina y agitar hasta disolución. Agregarle a la solución 35 ml de agua, mezclar, enfriar y filtrar.

Ditizona (SR) - Disolver 25,6 mg de ditizona en 100 ml de alcohol. Almacenar en un sitio frío y emplear dentro de los 2 meses de preparada.

Ditizona (SR1) - Disolver 40,0 mg de ditizona en cloroformo y diluir a 1.000 ml con el mismo solvente. Transferir 30 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con cloroformo.

Estandarización - Transferir 1 ml de solución de mercurio (20 ppm) (SL) a un ampolla de decantación y agregar 50 ml de ácido sulfúrico diluido, 140 ml de agua y 10 ml de una solución de 200 mg de clorhidrato de hidroxilamina por ml. Titular con ditizona (SR1) y agitar luego de cada agregado durante 20 minutos. Hacia el final de la valoración, dejar separar las fases y descartar la fase clorofórmica. Titular con ditizona (SR1) hasta obtener una coloración azul-verdosa. Calcular el equivalente en μg de mercurio por ml de ditizona (SR) por la fórmula siguiente,

$$20/V$$

donde V es el volumen en ml de ditizona (SR) empleada en la valoración.

Ditizona (SR2) - Preparar una solución de ditizona en cloroformo de 0,5 g por litro.

Edetato disódico (SR) - Disolver 1 g de edetato disódico en 950 ml de agua, agregar 50 ml de alcohol y mezclar.

Enzima fosfática (SR) - Disolver 5 g de enzima fosfática en agua para obtener 50 ml. Preparar esta solución el día de uso.

Eosina (SR) - (Indicador de adsorción) - Disolver 50 mg de eosina en 10 ml de agua.

Eriocromo cianina (SR) - Disolver 750 mg de eriocromo cianina R en 200 ml de agua, agregar 25 g de cloruro de sodio, 25 g de nitrato de amonio y 2 ml de ácido nítrico y diluir con agua a 1 litro.

Fenilhidracina - ácido sulfúrico (SR) - Disolver 65 mg de clorhidrato de fenilhidracina en 100 ml de una mezcla enfriada de volúmenes iguales de ácido sulfúrico y agua.

Fenoltaleína (SR) - Disolver 1 g de fenoltaleína en 100 ml de alcohol.

Fenoltaleína (SR 1) - Disolver 100 mg de fenoltaleína en 80 ml de alcohol diluir a 100 ml con agua.

Ensayo de sensibilidad - A 0,1 ml de solución de fenoltaleína, agregar 100 ml de agua. La solución debe ser incolora. No se requieren más de 0,2 ml de hidróxido de sodio 0,02 N para cambiar el color del indicador a rosa.

Ferricianuro de potasio (SR) - Disolver 1 g de ferricianuro de potasio en 10 ml de agua. Preparar esta solución antes de usar.

Ferricianuro de potasio diluido (SR) - Disolver 1 g de ferricianuro de potasio en 100 ml de agua. Preparar esta solución antes de usar.

Ferricianuro de potasio amoniaco (SR) - Disolver 2 g de ferricianuro de potasio en 75 ml de agua, agregar 25 ml de hidróxido de amonio y mezclar.

Ferrocianuro de potasio (SR) - Disolver 1 g de ferrocianuro de potasio en 10 ml de agua. Preparar esta solución antes de usar.

Ferroína (SR) - Disolver 0,7 g de sulfato ferroso y 1,76 g de monoclóhidrato de *o*-fenantrolina monohidrato en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente.

Floroglucinol (SR) - Disolver 500 mg de floroglucinol en 25 ml de alcohol. Almacenar en envases inactivos, de cierre perfecto.

Fluido gástrico simulado (SR) - Disolver 2,0 g de cloruro de sodio y 3,2 g de pepsina purificada, derivada de la mucosa estomacal porcina, con una actividad de 800 a 2.500 unidades por mg de proteína, en 7,0 ml de ácido clorhídrico y agua suficiente para obtener 1 litro. Esta solución tiene un pH de aproximadamente 1,2.

Fluido intestinal simulado (SR) - Disolver 6,8 g de fosfato monobásico de potasio en 250 ml de agua, mezclar y agregar 77 ml de hidróxido de sodio 0,2 N y 500 ml de agua. Agregar 10,0 g de pancreatina purificada, mezclar y ajustar la solución resultante con hidróxido de sodio 0,2 N o ácido clorhídrico 0,2N hasta pH $6,8 \pm 0,1$. Diluir con agua a 1 litro.

Fluoruro de sodio (SR) - Secar aproximadamente 500 mg de fluoruro de sodio a 200 °C duran-

te 4 horas. Pesar exactamente 222 mg del material seco y disolver en agua para obtener 100,0 ml. Transferir 10 ml de esta solución en un matraz aforado de 1 litro y completar a volumen con agua. Cada ml de esta solución corresponde a 0,01 mg de flúor (F).

Folin - Cioalteu para fenoles (SR) - En un erlenmeyer de 1500 ml, introducir 100 g de tungstato de sodio, 25 g de molibdato de sodio, 700 ml de agua, 50 ml de ácido fosfórico y 100 ml de ácido clorhídrico. Calentar a reflujo la mezcla suavemente durante aproximadamente 10 horas y agregar 150 g de sulfato de litio, 50 ml de agua y unas pocas gotas de bromo. Calentar a ebullición la mezcla, sin refrigerante, durante aproximadamente 15 minutos o hasta expulsar el exceso de bromo. Enfriar, diluir con agua a 1 litro y filtrar: el filtrado no tiene tinte verdoso. Antes de usar, diluir 1 parte del filtrado con 1 parte de agua.

Formaldehído (SR) - Emplear Solución de formaldehído (ver en *Especificaciones de reactivos*).

Fosfato dibásico de amonio (SR) - (*Fosfato de Amonio (SR)*) - Disolver 13 g de fosfato dibásico de amonio en agua para obtener 100 ml.

Fosfato dibásico de sodio (SR) - Disolver 12 g de cristales transparentes de fosfato dibásico de sodio en agua para obtener 100 ml.

Fosfotungstato de molibdeno (SR) - (*Reactivo de Folin-Denis*) - A aproximadamente 350 ml de agua dentro de un balón, agregar 50 g de tungstato sódico, 12 g de ácido fosfomolibdico y 25 ml de ácido fosfórico. Adosar un refrigerante al balón y calentar a ebullición la mezcla durante 2 horas, enfriar, diluir con agua a 500 ml y mezclar. Almacenar en envases inactivos, de cierre perfecto y en un sitio frío.

Fosfotungstato sódico (SR) - Agregar a una solución de 20 g de tungstato sódico en 100 ml de agua, ácido fosfórico suficiente para dar una reacción fuertemente ácida frente al tornasol y filtrar. Cuando se requiera esta solución, decantar la solución transparente de cualquier sedimento que pueda estar presente. Almacenar en envases inactivos, de cierre perfecto.

Fucsina-ácido sulfuroso (SR) - Disolver 200 mg de fucsina básica en 120 ml de agua caliente y dejar enfriar la solución. Agregar una solución de 2 g de sulfito de sodio anhidro en 20 ml de agua; luego agregar 2 ml de ácido clorhídrico. Diluir la solución con agua a 200 ml y dejar reposar durante no menos de 1 hora. Preparar esta solución antes de usar.

Fucsina decolorada (SR)- Disolver 100 mg de fucsina básica en 6 ml de agua y agregar 10 ml de una solución preparada disolviendo 1 g de sulfito de sodio anhidro en 10 ml de agua. Lentamente y en agitación constante agregar 2 ml de ácido clorhídrico y diluir a 100 ml con agua. Proteger de la luz y dejar reposar por lo menos durante 12 horas. Decolorar la solución agregando carbón vegetal activado y filtrar. Si la solución se enturbia, filtrarla antes de su empleo. Si con el tiempo se torna violeta, agregar nuevamente carbón vegetal activado para decolorarla. Conservar en envases inactivos.

Ensayo de sensibilidad - A 1,0 ml de fucsina decolorada agregar 1,0 ml de agua, 0,1 ml de alcohol libre de aldehído y 0,2 ml de una solución de formaldehído de 0,1 mg por ml. Luego de 5 minutos debe desarrollarse color rosa pálido.

Fucsina-pirogalol (SR) - Disolver 100 mg de fucsina básica en 50 ml de agua que previamente se ha calentado a ebullición durante 15 minutos y dejado enfriar levemente. Enfriar, agregar 2 ml de una solución saturada de bisulfito de sodio, mezclar y dejar reposar durante no menos de 3 horas. Agregar 0,9 ml de ácido clorhídrico, mezclar y dejar reposar de la noche a la mañana. Agregar 100 mg de pirogalol, agitar hasta disolución y diluir con agua a 100 ml. Almacenar en una botella de vidrio ámbar, en un refrigerador.

Gelatina (SR) - (para la valoración de *Corticotrofina solución inyectable*) - Disolver 340 g de precursor de gelatina tratada con ácido (Tipo A) en agua para obtener 1.000 ml. Calentar la solución en autoclave a 115 °C durante 30 minutos contados a partir de que la temperatura de la línea de salida ha alcanzado 115 °C. Enfriar la solución y agregar 10 g de fenol y 1.000 ml de agua. Almacenar en envases de cierre perfecto, en un refrigerador.

Glicerina básica (SR) - Agregar agua a 200 g de glicerina para obtener un peso total de 235 g. A continuación agregar 142,5 ml de hidróxido de sodio 1 N y 47,5 ml de agua.

Glucosa oxidasa - cromogénica (SR) - Una solución que contiene, en cada ml, 0,5 μmol de 4-aminoantipirina, 22,0 μmol de p-hidroxibenzoato de sodio, no menos de 7,0 unidades de glucosa oxidasa y no menos de 0,5 unidades de peroxidasa y regulada a pH $7,0 \pm 0,1$.

Aptitud - Cuando se emplea para determinar glucosa en Inulina, evaluar que no se produzca color significativo después de la reacción con fructosa y que se obtenga una pendiente apropiada de absorbancia en función de la concentración de glucosa.

Hematoxilina de Delafield (SR) - Preparar 400 ml de una solución saturada de alumbre de amonio (*Solución A*). Disolver 4 g de hematoxilina en 25 ml de alcohol, mezclarlo con *Solución A* y dejar reposar durante 4 días en un erlenmeyer tapado con una torunda de algodón purificado y expuesto a la luz y al aire (*Solución B*). Luego filtrar la *Solución B* y agregarla a la *Solución C*, que consta de una mezcla de 100 ml de glicerina y 100 ml de metanol. Mezclar y dejar reposar la mezcla en un sitio caliente, expuesto a la luz, durante 6 semanas hasta que se colorea de oscuro. Almacenar en botellas perfectamente tapadas. Para teñir tejido endocrino, diluir esta solución de reactivo con un volumen igual de agua.

Hidrato de cloral (SR) - Disolver 50 g de hidrato de cloral en una mezcla de 15 ml de agua y 10 ml de glicerina.

Hidrosulfito de sodio alcalino (SR) - Disolver 25 g de hidróxido de potasio en 35 ml de agua y 50 g de hidrosulfito de sodio en 250 ml de agua. Cuando se requiere la solución de reactivo, mezclar 40 ml de la solución de hidróxido con los 250 ml de la solución de hidrosulfito. Preparar esta solución antes de usar.

Hidróxido de bario (SR) - Una solución saturada de hidróxido de bario en agua recientemente hervida. Preparar la solución el día de uso.

Hidróxido de calcio (SR) - Emplear *Solución tópica de hidróxido de calcio*.

Hidróxido de cuprietilendiamina (SR) - Solución de hidróxido de cuprietilendiamina 1 M, con relación molar entre la etilendiamina y el cobre es de $2,00 \pm 0,04$.

Hidróxido de potasio (SR) - Disolver 6,5 g de hidróxido de potasio en agua para obtener 100 ml.

Hidróxido de potasio alcohólico (SR) - Emplear *Hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N* (ver en *Soluciones volumétricas*).

Hidróxido de sodio (SR) - Disolver 4,0 g de hidróxido de sodio en agua para obtener 100 ml.

Hidróxido de tetrametilamonio (SR) - Emplear una solución acuosa que contenga, cada 100 ml, el equivalente de 10 g de hidróxido de tetrametilamonio anhidro.

8-Hidroxiquinolina (SR) - Disolver 5 g de 8-hidroxiquinolina en alcohol para obtener 100 ml.

Hierro - fenol (SR) - (*Reactivo Hierro-Kober*) - Disolver 1,054 g de sulfato ferroso amónico en 20 ml de agua y agregar 1 ml de ácido sulfúrico y 1 ml de peróxido de hidrógeno al 30 %. Mezclar, calen-

tar hasta que cese la efervescencia y diluir con agua a 50 ml. A 3 volúmenes de esta solución contenido en un matraz aforado agregar ácido sulfúrico, enfriando, para obtener 100 volúmenes. Purificar el fenol mediante destilación, descartando el primer 10 % y el último 5 %, recolectar el destilado, excluyendo la humedad, en un erlenmeyer seco y previamente pesado, con tapón de vidrio, de aproximadamente dos veces el volumen de fenol. Solidificar el fenol en un baño de hielo, rompiendo la capa superficial con una varilla de vidrio para asegurar una cristalización completa. Pesar el erlenmeyer y su contenido, agregar al fenol 1,13 veces su peso de solución de hierro-ácido sulfúrico preparada según se indica, insertar el tapón en el erlenmeyer y dejar reposar, sin enfriamiento pero mezclando ocasionalmente, hasta que el fenol licue. Agitar la mezcla vigorosamente, dejar reposar en la oscuridad durante 16 a 24 horas, y nuevamente pesar el erlenmeyer y su contenido. A la mezcla agregar 23,5 % de su peso de una solución de 100 volúmenes de ácido sulfúrico en 110 volúmenes de agua, mezclar, transferir a una botella con tapón de vidrio seca y almacenar en la oscuridad, protegida de humedad atmosférica. Emplear dentro de los 6 meses de preparada. Agregar el reactivo desde una bureta de diámetro interno pequeño, protegida de la humedad, capaz de entregar 1 ml en 30 segundos o menos, sin lubricante en su robinete con excepción del reactivo. Limpiar la punta de la bureta antes de cada agregado.

Hipobromito de sodio (SR) - A una solución de 20 g de hidróxido de sodio en 75 ml de agua, agregar 5 ml de bromo. Luego que se disuelva, diluir con agua a 100 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Hipoclorito de sodio (SR) - Emplear *Solución de hipoclorito de sodio* (ver en *Especificaciones de reactivos*).

Hipoclorito de sodio diluida (SR)- Diluir 35 ml de solución de hipoclorito de sodio (SR) a 100 ml con agua inmediatamente antes de su uso. La solución contiene aproximadamente 3,5 % p/v de la cloro libre.

Índigo carmín (SR) - (*Indigotindisulfonato de sodio (SR)*) - Disolver una cantidad de indigotindisulfonato de sodio, equivalente a 180 mg de $C_{16}H_8N_2O_2(SO_3Na)_2$, en agua para obtener 100 ml. Emplear dentro de los 60 días de preparado.

Indofenol - acetato (SR) - (para la valoración de *Corticotrofina solución inyectable*) - A 60 ml de *Solución estándar de 2,6-diclorofenol-indofenol* (ver en *Soluciones volumétricas*) agregar agua hasta obtener 250 ml. Agregar a la solución resultante un

volumen igual de solución de acetato de sodio preparado recientemente al disolver 13,66 g de acetato de sodio anhidro en agua hasta obtener 500 ml y ajustando con ácido acético 0,5 N a pH 7. Almacenar en un refrigerador y emplear dentro de las 2 semanas de preparada.

Iodo (SR) - Emplear *Iodo 0,1 N* (ver en *Soluciones volumétricas*).

Iodobismutato de potasio (SR) - Disolver 12,5 g de ácido tartárico en 25 ml de agua y luego disolver 1,06 g de subnitrito de bismuto en esta mezcla (*Solución A*). Disolver 20 g de yoduro de potasio en 25 ml de agua (*Solución B*). Disolver 100 g de ácido tartárico en 450 ml de agua (*Solución C*). Agregar las *Soluciones A y B* a la *Solución C* y mezclar.

Iodobismutato de potasio (SR1) - Disolver 100 g de ácido tartárico en 400 ml de agua y agregar 8,5 g de subnitrito de bismuto. Agitar durante 1 hora, agregar 200 ml de una solución de yoduro de potasio de 400 g por litro y agitar. Dejar en reposo durante 24 horas y filtrar. Conservar protegido de la luz.

Iodobismutato de potasio (SR2) - Suspender 1,7 g de subnitrito de bismuto y 20 g de ácido tartárico en 40 ml de agua. Agregar 40 ml de una solución de yoduro de potasio al 40 % u agitar durante 1 hora y filtrar. Conservar protegido de la luz. Inmediatamente antes de su uso, mezclar 5 ml de esta solución con 15 ml de agua.

Iodohidroquinoleinsulfonato sódico (SR) - Disolver 8,8 g de ácido iodohidroquinoleín sulfónico en 200 ml de agua y agregar 6,5 ml de hidróxido de sodio 4 N. Diluir con agua a 250 ml, mezclar y filtrar.

Iodo-yoduro de potasio (SR) - Disolver 500 mg de yodo y 1,5 g de yoduro de potasio en 25 ml de agua.

Iodo-yoduro de potasio (SR1) - A 10 ml de yodo 0,05 N, agregar 0,6 g de yoduro de potasio y diluir con agua a 1000 ml. [NOTA: Preparar en forma extemporánea].

Iodo-yoduro de potasio (SR2) - Disolver 2 g de yodo y 4 g de yoduro de potasio en 10 ml de agua. Cuando la solución este completamente diluida completar a 100 ml con agua.

Iodomercuriato de potasio (SR) - (*Reactivo de Mayer*) - Disolver 1,358 g de cloruro mercúrico en 60 ml de agua. Disolver 5 g de yoduro de potasio en 10 ml de agua. Mezclar las dos soluciones y diluir con agua a 100 ml.

Iodomercuriato de potasio alcalino (SR) - (*Reactivo de Nessler*) - Disolver 10 g de yoduro de potasio en 10 ml de agua y agregar lentamente agitando, una solución saturada de cloruro mercúrico hasta que un leve precipitado rojo permanezca sin disolverse. A esta mezcla, agregar una solución de 30 g de hidróxido de potasio en 60 ml de agua previamente enfriada en baño de hielo luego agregar 1 ml adicional de la solución saturada de cloruro mercúrico. Diluir con agua a 200 ml. Dejar que el precipitado sedimente y extraer el líquido transparente. Una porción de 2 ml de este reactivo, cuando se agrega a 100 ml de una solución (1 en 300.000) de cloruro de amonio en agua libre de amoníaco, produce inmediatamente un color pardo amarillento.

Iodoplatinato (SR) - Disolver 300 mg de cloruro platínico en 97 ml de agua. De inmediato antes de usar, agregar 3,5 ml de yoduro de potasio (SR) y mezclar.

Iodoplatinato de potasio (SR) - Disolver 200 mg de cloruro platínico en 2 ml de agua, mezclar con 25 ml de solución de yoduro de potasio (1 en 25) y agregar agua para obtener 50 ml.

Ioduro cúprico alcalino (SR) - Disolver 7,5 g de sulfato cúprico ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) en aproximadamente 100 ml de agua. En un envase separado disolver 25g de carbonato de sodio anhidro, 20 g de bicarbonato de sodio y 25 g de tartrato de sodio y potasio en aproximadamente 600 ml de agua. Con agitación constante, agregar la solución de sulfato cúprico al fondo de la solución de tartrato alcalino a través de un embudo que toca el fondo del envase. Agregar 1,5 g de yoduro de potasio, 200 g de sulfato de sodio anhidro, 50 a 150 ml de iodato de potasio 0,02 M y agua en cantidad suficiente para obtener 1 litro.

Ioduro de potasio (SR) - Disolver 16,5 g de yoduro de potasio en agua para obtener 100 ml. Almacenar en envases inactivos.

Ioduro de potasio y almidón (SR) - Disolver 0,75 g de yoduro de potasio en 100 ml de agua. Calentar a ebullición y agregar bajo agitación, una solución de 0,5 g de almidón soluble en 35 ml de agua. Calentar a ebullición durante 2 minutos y dejar enfriar.

Ioduro mercúrico (SR) - (*Reactivo de Valser*) - Agregar lentamente solución de yoduro de potasio (1 en 10) a yoduro mercúrico rojo hasta que este último se disuelva casi totalmente y filtrar el exceso. Una solución que contiene 10 g de yoduro de potasio en 100 ml disuelve aproximadamente a 14 g de HgI_2 a 20 °C.

Locke-Ringer (SR) - (*Solución de Locke-Ringer*).

Cloruro de sodio	9,0 g
Cloruro de potasio	0,42 g
Cloruro de calcio	0,24 g
Cloruro de magnesio	0,2 g
Bicarbonato de sodio	0,5 g
Dextrosa	0,5 g

Agua, recientemente destilada en un matraz de vidrio grueso, c.s.p. 1000 ml

Preparar en el día de uso. Los componentes (excepto la dextrosa y el bicarbonato de sodio) pueden prepararse como soluciones madre y diluirse según sea necesario.

Mezcla de magnesia (SR) - Disolver 5,5 g de cloruro de magnesio y 7 g de cloruro de amonio en 65 ml de agua, agregar 35 ml de amoníaco (SR), dejar la mezcla aparte durante unos pocos días en una botella de cierre perfecto y filtrar. Si la solución no es transparente, filtrar antes de usar.

Molibdato de amonio (SR) - Disolver 6,5 g de ácido molíbdico finamente pulverizado en una mezcla de 14 ml de agua y 14,5 ml de hidróxido de amonio. Enfriar la solución y agregarla lentamente, agitando, a una mezcla enfriada de 32 ml de ácido nítrico y 40 ml de agua. Dejar reposar durante 48 horas y filtrar a través de un crisol de vidrio sinterizado de porosidad fina. Esta solución se deteriora con el tiempo y no es apropiada para su empleo si luego del agregado de 2 ml de fosfato dibásico de sodio (SR) a 5 ml de la solución, no se forma un precipitado amarillo abundante inmediatamente o luego de un calentamiento suave. Almacenarlo en la oscuridad. Si se forma un precipitado durante el almacenamiento, emplear solo la solución sobrenadante transparente.

Molibdato de amonio (SR1) - Disolver en caliente 5,0 g de molibdato de amonio en 30 ml de agua y dejar enfriar. Ajustar el pH a 7,0 con amoníaco diluido y diluir con agua a 50 ml.

Molibdovanádico (SR) - En un vaso de 150 ml, mezclar 4,0 g de molibdato de amonio finamente pulverizado y 100 mg de vanadato de amonio finamente pulverizado. Agregar 70 ml de agua y triturar las partículas con una varilla de vidrio. Luego de unos minutos, se obtiene una solución transparente. Agregar 20 ml de ácido nítrico y diluir a 100 ml con agua.

Monocloruro de yodo (SR) - Disolver 10 g de yoduro de potasio y 6,44 g de iodato de potasio en

75 ml de agua en un envase con tapón de vidrio. Agregar 75 ml de ácido clorhídrico y 5 ml de cloroformo y ajustar a un color de yodo débil (en el cloroformo) agregando yoduro de potasio diluido o solución de iodato de potasio. Si se libera demasiado yodo, emplear al principio una solución más fuerte de iodato de potasio que 0,01 M, haciendo el ajuste final con iodato de potasio 0,01 M. Almacenar en un sitio oscuro, y reajustar a un color de yodo débil según sea necesario.

1-Naftol (SR) - Disolver 1 g de 1-naftol en 25 ml de metanol. Preparar esta solución el día de uso.

2-Naftol (SR) - (*Betanaftol (SR)*) - Disolver 1 g de 2-naftol en 100 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 100).

p-Naftolbencéina (SR) - Disolver 250 mg de p-naftolbencéina en 100 ml de ácido acético glacial.

Naranja de metilo (SR) - Disolver 100 mg de naranja de metilo en 100 ml de agua y filtrar si fuera necesario.

Naranja de xilenol (SR) - Disolver 100 mg de naranja de xilenol en 100 ml de alcohol.

Negro de eriocromo (SR) - Disolver 200 mg de negro de eriocromo T y 2 g de clorhidrato de hidroxilamina en metanol para obtener 50 ml.

Ninhidrina (SR) - (*Tricetohidrendeno monohidrato (SR)*) - Disolver 200 mg de ninhidrina en agua para obtener 10 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Ninhidrina (SR1) - Disolver 1 g de ninhidrina en 50 ml de alcohol y agregar 10 ml de ácido acético glacial.

Nitrato cérico amónico (SR) - Disolver 6,25 g de nitrato cérico amónico en 10 ml de ácido nítrico 0,25 N. Emplear dentro de los 3 días de preparada.

Nitrato de bario (SR) - Disolver 6,5 g de nitrato de bario en agua para obtener 100 ml.

Nitrato de plata (SR) - Emplear Nitrato de plata 0,1 N (ver *Soluciones volumétricas*).

Nitrato de plata amoniacal (SR) - Disolver 1 g de nitrato de plata en 20 ml de agua. Agregar amoníaco (SR), gota a gota, agitando constantemente, hasta que el precipitado casi se disuelva pero no completamente. Filtrar y almacenar en envases de material inactínico, de cierre perfecto.

Nitrato de torio (SR) - Disolver 1 g de nitrato de torio en agua para obtener 100 ml. Filtrar, si fuera necesario.

Nitrato mercúrico (SR) - Disolver 40 g de óxido mercúrico (rojo o amarillo) en una mezcla de 32 ml de ácido nítrico y 15 ml de agua. Almacenar en envases de vidrio inactínico.

Nitrato mercurioso (SR) - Disolver 15 g de nitrato mercurioso en una mezcla de 90 ml de agua y 10 ml de ácido nítrico diluido. Almacenar en botellas de material inactínico en las cuales se ha colocado un glóbulo pequeño de mercurio.

p-Nitroanilina (SR) - A 350 mg de p-nitroanilina, agregar 1,5 ml de ácido clorhídrico y mezclar. Diluir con agua a 50 ml, mezclar y dejar sedimentar. Colocar 5 ml del líquido claro sobrenadante en un matraz aforado de 100 ml y sumergirlo en un baño de hielo. Mientras está en el baño de hielo, agregar 1 ml de ácido clorhídrico luego agregar, en pequeñas porciones, 2 ml de solución de nitrito de sodio (1 en 100), completar a volumen con agua y mezclar.

Nitrobenzaldehído (SR) - A 10 ml de solución diluida de hidróxido de sodio, agregar 0,12 g de nitrobenzaldehído triturado. Dejar en reposo, con agitación frecuente durante 10 minutos y filtrar. Preparar en el momento de su uso.

Nitrofenantrolina (SR) - Disolver 150 mg de 5-nitro-1,10-fenantrolina en 15 ml de solución de sulfato ferroso recientemente preparada (1 en 140).

Nitroferriicianuro sódico (SR) - Disolver 1 g de nitroferriicianuro sódico en agua para obtener 20 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Ortofenantrolina (SR) - Disolver 150 mg de ortofenantrolina en 10 ml de una solución de sulfato ferroso, preparada mediante disolución de 700 mg de cristales claros de sulfato ferroso en 100 ml de agua. La solución de sulfato ferroso debe estar preparada inmediatamente antes de disolver la ortofenantrolina. Almacenar en envases bien cerrados.

Oxalato de amonio (SR) - Disolver 3,5 g de oxalato de amonio en agua para obtener 100 ml.

Oxido cúprico amoniacal (SR) - (*Reactivo de Schweitzer*) - Disolver 10 g de sulfato cúprico en 100 ml de agua, agregar suficiente solución de hidróxido de sodio (1 en 5) hasta precipitar el hidróxido de cobre, recolectar este último en un filtro y lavarlo con agua fría exenta de sulfato. Disolver el precipitado, que debe mantenerse húmedo durante todo el procedimiento, en la cantidad mínima de amoníaco (SR) necesaria para disolución completa.

Pasta de yoduro-almidón (SR) - Calentar 100 ml de agua en un vaso de precipitados de 250 ml hasta ebullición, agregar una solución de

750 mg de yoduro de potasio en 5 ml de agua. Luego agregar 2 g de cloruro de cinc disuelto en 10 ml de agua y mientras continúa la ebullición agregar, con agitación, una suspensión homogénea de 5 g de almidón soluble en 30 ml de agua fría. Continuar calentando a ebullición durante 2 minutos luego enfriar. Almacenar en envases bien cerrados en un sitio frío.

La pasta de yoduro-almidón (SR) debe mostrar una línea azul definida cuando una varilla de vidrio, sumergida en una mezcla de 1 ml de nitrito de sodio 0,1 M, 500 ml de agua y 10 ml de ácido clorhídrico, se pasa sobre un extendido de la pasta.

Perclorato de metiltionina (SR) - A 500 ml de una solución de perclorato de potasio (1 en 1.000), agregar, gota a gota, agitando constantemente, solución de azul de metileno (1 en 100) hasta observar una leve turbidez permanente. Dejar que el precipitado sedimente, decantar el líquido sobrenadante a través de papel y emplear solo la solución transparente.

Penicilasa (SR) - Transferir 10 g de caseína hidrolizada, 2,72 g de fosfato dihidrogenado de potasio y 5,88 g de citrato de sodio a un matraz de 1 litro, agregar 200 ml de agua, ajustar a pH 7,2 con hidróxido de sodio al 20 % y completar a volumen con agua. Disolver 0,41 g de sulfato de magnesio en 5 ml de agua y agregar 1 ml de una solución de 1,6 mg de sulfato ferroso amónico por ml y diluir a 10 ml con agua. Esterilizar ambas soluciones en autoclave, enfriar, mezclar, distribuir en sendos erlenmeyer formando capas poco profundas y sembrar *Bacillus cereus* (ATCC 9946). Dejar en reposo a una temperatura comprendida entre 18 y 37 °C hasta obtener crecimiento y luego mantener a una temperatura comprendida entre 35 y 37 °C durante 16 horas, en constante agitación para asegurar la aireación. Centrifugar y esterilizar el líquido sobrenadante por filtración por membrana. Cada ml debe contener no más de 0,4 microkatal (correspondientes a una hidrólisis de por lo menos 500 mg de bencilpenicilina en ácido bencilpeniciloico por hora) a 30 °C y a pH 7, siempre que la concentración de bencilpenicilina no descienda por debajo del nivel necesario para alcanzar la saturación enzimática. La constante de Michaelis para la bencilpenicilina, de la penicilinasas presente en la solución debe ser aproximadamente 12 µg por ml. Conservar a una temperatura comprendida entre 0 y 2 °C y emplear en un periodo menor a 3 días. En forma liofilizada y en ampollas selladas, puede conservarse durante varios meses.

Ensayo de esterilidad <370> - Debe cumplir con este requisito.

Periodato de sodio (SR) - Disolver 1,07 g de periodato de sodio en agua, agregar 5 ml de ácido sulfúrico diluido y diluir a 100 ml con agua. [NOTA: preparar esta solución antes de su empleo].

Permanganato de potasio (SR) - Emplear Permanganato de potasio 0,1 N (ver *Soluciones volumétricas*).

Peróxido de hidrógeno (SR) - Emplear *Agua oxigenada*.

Peróxido de hidrógeno al 3 % (SR) - H_2O_2 - (PM: 34,0) - Contiene no menos de 2,5 %p/p y no más de 3,5 % p/p de H_2O_2 . Un volumen de esta solución corresponde a unas 10 veces su volumen de oxígeno. Se puede agregar un estabilizante apropiado.

Peróxido de hidrógeno al 30 % (SR) - H_2O_2 - (PM: 34,0) - Contiene no menos de 29 %p/p y no más de 31 % p/p de H_2O_2 . Un volumen de esta solución corresponde a unas 11 veces su volumen de oxígeno. Se puede agregar un estabilizante apropiado.

Picrato alcalino (SR) - Mezclar 20 ml de solución de trinitrofenol (1 en 100) con 10 ml de solución de hidróxido de sodio (1 en 20), diluir con agua a 100 ml y mezclar. Emplear dentro de los 2 días de preparado.

Piridilazonaftol (SR) - Preparar una solución de 1 g de piridilazonaftol en 1 litro de alcohol.

Sensibilidad - A 50 ml de agua, agregar 10 ml de solución reguladora de acetato (SR1), 0,10 ml de edetato disódico 0,02 M y 0,25 ml de piridilazonaftol (SR). Agregar 0,15 ml de una solución de sulfato de cobre de 5 g por litro: el color debe virar de amarillo pálido a violeta.

Piridina-pirazolona (SR) - A 100 ml de una solución saturada de 1-fenil-3-metil-2-pirazolin-5-ona, agregar 20 ml de una solución (1 en 1000) de 3,3N-dimetil-1,1N-difenil-[4,4N-bi-2-pirazolina]-5,5N-diona en piridina. Almacenar en una botella de material inactivo y emplear dentro de los 3 días de preparada.

Piroantimoniato de potasio (SR) - Disolver 2 g de piroantimoniato de potasio en 95 ml de agua caliente. Enfriar rápidamente, agregar una solución que contenga 2,5 g de hidróxido de potasio en 50 ml de agua y 1 ml de solución de hidróxido de sodio (8,5 en 100). Dejar reposar durante 24 horas, filtrar y diluir con agua a 150 ml.

Pirogalol alcalino (SR) - Disolver 500 mg de pirogalol en 2 ml de agua. Disolver 12 g de hidróxido de potasio en 8 ml de agua. Las solucio-

nes deben prepararse en el momento y mezclar inmediatamente antes de usar.

Platino-cobalto (SR) - Disolver 1,246 g de cloroplatinato de potasio (K_2PtCl_6) y 1,000 g de cloruro de cobalto ($CoCl_2 \cdot 6H_2O$) en agua, agregar 100 ml de ácido clorhídrico y diluir con agua a 1 litro.

Polisulfuro de amonio (SR) - Líquido amarillo, preparado saturando el sulfuro de amonio (SR) con azufre.

Púrpura de bromocresol (SR) - Disolver 250 mg de púrpura de bromocresol en 20 ml de hidróxido de sodio 0,05 N y diluir con agua a 250 ml.

Púrpura de bromocresol (SR1) - Disolver 50 mg de púrpura de bromocresol en 0,92 ml de hidróxido de sodio 0,1 N y 20 ml de alcohol. Diluir con agua a 100 ml.

Sensibilidad - A 0,2 ml de púrpura e bromocresol, agregar 100 ml de agua libre de dióxido de carbono y 0,05 ml de hidróxido de sodio 0,02 N. La solución es azul violeta. El viraje del indicador al amarillo o debe consumir más de 0,2 ml de ácido clorhídrico 0,2 M.

Zona de viraje - De pH 5,2 (amarillo) a pH 6,8 (azul violeta).

Púrpura de m-cresol (SR) - Disolver 100 mg de púrpura de metacresol en 13 ml de hidróxido de sodio 0,01 N, diluir con agua a 100 ml y mezclar.

Púrpura de metilo (SR) - Ver Rojo de metilo-azul de metileno (SR).

Quinona (SR) - Disolver 500 mg de p-benzoquinona en 2,5 ml de ácido acético glacial y diluir con alcohol a 50 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Reactivo de Biuret - Disolver 1,5 g de sulfato cúprico y 6,0 g de tartrato de sodio y potasio en 500 ml de agua en un matraz aforado de 1 litro. Agregar 300 ml de solución de hidróxido de sodio libre de carbonato (1 en 10), diluir con solución de hidróxido de sodio libre de carbonato (1 en 10) a 1 litro y mezclar.

Reactivo de Denigès -Ver Sulfato mercúrico(SR).

Reactivo de Mayer - Ver Iodomercuriato de potasio (SR).

Reactivo de Millon - Transferir 2 ml de mercurio a un erlenmeyer, agregar 20 ml de ácido nítrico. Agitar el erlenmeyer bajo una campana extractora para deshacer el mercurio en glóbulos pequeños. Luego de aproximadamente 10 minutos, agregar

35 ml de agua y, si aparece un precipitado o cristales, agregar ácido nítrico diluido suficiente (1 en 5, preparado a partir de ácido nítrico al que se le hayan retirado los óxidos haciendo pasar aire a través de él hasta que se torne incoloro) para disolver el sólido separado. Agregar solución de hidróxido de sodio (1 en 10) gota a gota, mezclando minuciosamente, hasta que el precipitado grueso que se forma luego del agregado de cada gota ya no se redisuelve pero se dispersa para formar una suspensión. Agregar 5 ml adicionales de ácido nítrico diluido y mezclar. Preparar esta solución al momento de usar.

Reactivo de Nessler - Ver Iodomercuriato de potasio alcalino (SR).

Reactivo de Schweitzer - Ver Óxido cúprico amoniacal (SR).

Reineckato de amonio (SR) - Agitar aproximadamente 500 mg de reineckato de amonio con 20 ml de agua con frecuencia durante 1 hora y filtrar. Emplear dentro de los 2 días de preparado.

Resorcinol (SR) - Disolver 1 g de resorcinol en ácido clorhídrico para obtener 100 ml.

Rojo congo (SR) - Disolver 500 mg de rojo congo en una mezcla de 10 ml de alcohol y 90 ml de agua.

Rojo cresol (SR) - Triturar 100 mg de rojo cresol en un mortero con 26,2 ml de hidróxido de sodio 0,01N hasta disolución completa luego diluir la solución con agua a 250 ml.

Rojo cresol - azul de timol (SR) - Agregar 15 ml de azul de timol (SR) a 5 ml de rojo cresol (SR) y mezclar.

Rojo de fenol (SR) - (*Fenolsulfoftaleína (SR)*) - Disolver 100 mg de fenolsulfoftaleína en 100 ml de alcohol y filtrar si fuera necesario.

Rojo de fenol (SR1) - Disolver 25 mg de sulfato de amonio en 235 ml de agua y agregar 105 ml de hidróxido de sodio diluido y 135 ml de ácido acético diluido. Agregar 25 ml de una solución preparada disolviendo 30 mg de rojo de fenol en 1,5 ml de hidróxido de sodio diluido y completando a volumen de 100 ml con agua.

Rojo de metilo (SR) - Disolver 100 mg de rojo de metilo en 100 ml de alcohol y filtrar si fuera necesario.

Rojo de metilo (SR 1) - Disolver 50 mg de rojo de metilo en una mezcla de 1,86 ml de hidróxido de sodio 0,1 M y de 50 ml de alcohol. Diluir a 100 ml con agua.

Ensayo de sensibilidad - A 0,1 ml de solución de rojo de metilo, agregar 100 ml de agua y 0,05 ml

de ácido clorhídrico 0,02 M. La solución es roja. El viraje del indicador al amarillo no requiere más de 0,1ml de hidróxido de sodio 0,02 M.

Rojo de metilo-azul de metileno (SR) - (*Púrpura de metilo (SR)*) - Agregar 10 ml de rojo de metilo (SR) a 10 ml de azul de metileno (SR) y mezclar.

Rojo de metilo metanólico (SR) - Disolver 1 g de rojo de metilo en 100 ml de metanol y filtrar, si fuera necesario. Almacenar en envases inactivos y emplear dentro de los 21 días de preparado.

Rojo de quinaldina (SR) - Disolver 100 mg de rojo de quinaldina en 100 ml de alcohol.

Rojo de rutenio (SR) - Disolver 10 g de acetato de plomo en agua, diluir con agua a 100 ml y agregar 80 mg de rojo de rutenio. La solución es de color rojo-vino. [NOTA: si fuera necesario, agregar rojo de rutenio adicional para obtener un color rojo-vino.]

Rojo neutro (SR) - Disolver 100 mg de rojo neutro en 100 ml de alcohol al 50 %.

Salicilato de hierro (SR) - Disolver 500 mg de sulfato férrico amónico en 250 ml de agua que contiene 10 ml de ácido sulfúrico diluido y agregar agua para obtener 500 ml. A 100 ml de la solución resultante agregar 50 ml de una solución de salicilato de sodio al 1,15%, 20 ml de ácido acético diluido y 80 ml de una solución de acetato de sodio al 13,6 %, luego agregar agua hasta obtener 500 ml. Almacenar en un envase inactivo de cierre perfecto. Emplear dentro de las dos semanas de preparada.

Solución cupri-tartárica (SR) - Ver Tartrato cúprico alcalino (SR).

Solución de Fehling - Ver Tartrato cúprico alcalino (SR).

Solución de Locke - Ringer - Ver Locke - Ringer (SR).

Solución estándar de plomo - Ver <590>. *Límite de metales pesados.*

Solución fisiológica (SR) - Disolver 9,0 g de cloruro de sodio en agua para obtener 1 litro. [NOTA: cuando en este compendio se especifica *Solución fisiológica libre de piretógenos (SR)*, se empleará solución fisiológica (SR) que cumpla con los requisitos de <340>. *Ensayo de piretógenos.*]

Solución fisiológica libre de piretógenos (SR) - Ver Solución fisiológica (SR).

Solución fuerte de 1-naftol (SR) - Disolver 1 g de 1-naftol en una solución de 6 g de hidróxido

de sodio y 16 g de carbonato de sodio anhidro en 100 ml de agua.

Solución de Lugol (SR) - Disolver 5 g de yodo y 10 g de yoduro de potasio en 100 ml de agua.

Solución reguladora de acetato (SR) - Disolver 320 g de acetato de amonio en 500 ml de agua, agregar 5 ml de ácido acético glacial, diluir con agua a 1 litro y mezclar. Esta solución tiene un pH entre 5,9 y 6,0.

Solución reguladora de acetato (SR1) - Disolver 136 g de acetato de sodio y 77 g de acetato de amonio en 100 ml de agua, agregar 250 ml de ácido acético glacial y mezclar. Esta solución tiene un pH de aproximadamente 4,4.

Solución reguladora de acetato (SR2) - Disolver 77,1 g de acetato de amonio en agua, agregar 70 ml de ácido acético glacial y diluir con agua a 1 litro. Esta solución tiene un pH de aproximadamente 4,5.

Solución reguladora de ácido acético-acetato de amonio (SR) - Disolver 77,1 g de acetato de amonio en agua, agregar 57 ml de ácido acético glacial y diluir con agua a 1 litro.

Solución reguladora de amoníaco-cloruro de amonio (SR) - Disolver 67,5 g de cloruro de amonio en agua, agregar 570 ml de hidróxido de amonio y diluir con agua a 1 litro.

Solución reguladora de barbital pH 8,4 (SR) - Disolver 8,25 g de barbital sódico en agua y diluir a 1 litro con el mismo solvente.

Solución reguladora de barbital pH 8,6 (SR) - Disolver 1,38 g de barbital, 8,76 g de barbital sódico y 0,38 g de lactato de calcio en agua y diluir a 1 litro con el mismo solvente.

Solución reguladora fosfato salina pH 7,4 (SR) - Disolver 2,38 g de Na_2HPO_4 , 0,19 g de KH_2PO_4 y 8,0 g de ClNa en H_2O . Diluir a 1 litro con el mismo solvente y ajustar a pH 7,4 si es necesario.

Subacetato de plomo (SR) - Triturar 14 g de monóxido de plomo con 10 ml de agua hasta obtener una pasta suave y transferir la mezcla a una botella, empleando 10 ml de agua adicionales para lavar. Disolver 22 g de acetato de plomo en 70 ml de agua y agregar la solución a la mezcla de óxido de plomo. Agitar vigorosamente durante 5 minutos y luego agitar con frecuencia durante 7 días. Finalmente filtrar, y agregar suficiente agua recientemente hervida a través del filtro hasta obtener 100 ml.

Subacetato de plomo diluido (SR) - Diluir 3,25 ml de subacetato de plomo (SR) con agua, recientemente hervida y enfriada, para obtener 100 ml. Almacenar en envases pequeños, completamente llenos, de cierre perfecto.

Sudán III (SR) - Disolver 50 mg de sudán III en 25 ml de alcohol, calentando si fuera necesario. Enfriar, agregar 25 ml de glicerina, y mezclar. Filtrar si queda material sin disolver.

Sudán IV (SR) - Disolver 500 mg de sudán IV en cloroformo para obtener 100 ml.

Sulfanílico - 1-naftilamina (SR) - Disolver 500 mg de ácido sulfanílico en 150 ml de ácido acético. Disolver 100 mg de clorhidrato de 1-naftilamina en 150 ml de ácido acético y mezclar las dos soluciones. El color rosado, que se puede desarrollar al dejar reposar la solución, puede ser eliminado por tratamiento con cinc.

Sulfato cúprico (SR) - Disolver 12,5 g de sulfato cúprico en agua para obtener 100 ml.

Sulfato de amonio cúprico (SR) - A sulfato cúprico (SR) agregar amoníaco (SR), gota a gota, hasta que el precipitado formado al principio se disuelva casi totalmente pero no completamente. Dejar sedimentar y decantar la solución transparente. Preparar esta solución el día de uso.

Sulfato de calcio (SR) - Una solución saturada de sulfato de calcio en agua.

Sulfato de magnesio (SR) - Disolver 12 g de cristales de sulfato de magnesio, seleccionados por la ausencia de fluorescencia, en agua para obtener 100 ml.

Sulfato de potasio (SR) - Disolver 1 g de sulfato de potasio en agua para obtener 100 ml.

Sulfato férrico amónico (SR) - Disolver 8 g de sulfato férrico amónico en agua para obtener 100 ml.

Sulfato ferroso (SR) - Disolver 8 g de cristales transparentes de sulfato ferroso en aproximadamente 100 ml de agua recientemente hervida y completamente enfriada. Preparar esta solución antes de usar.

Sulfato ferroso ácido (SR) - Disolver 7 g de cristales de sulfato ferroso en 90 ml de agua recientemente hervida y completamente enfriada y agregar ácido sulfúrico para obtener 100 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Sulfato mercúrico (SR) - (*Reactivo de Denigès*) Mezclar 5 g de óxido mercúrico amarillo con 40 ml de agua, y agregar lentamente, con agitación, 20 ml de ácido sulfúrico agitando luego agregar

otros 40 ml de agua y agitar hasta disolución completa.

Sulfuro de amonio (SR) - Saturar amoníaco (SR) con sulfuro de hidrógeno y agregar dos tercios de su volumen de amoníaco (SR). Residuo de ignición: no más de 0,05 %. La solución no se enturbia o por sulfato de magnesio (SR) o por cloruro de calcio (SR) (*carbonato*). Esta solución no es apropiada para usar si se forma un precipitado abundante de azufre. Almacenarlo en pequeñas botellas de vidrio inactivo, completamente llenas, en un sitio frío y oscuro.

Sulfuro de hidrógeno (SR) - Una solución saturada de sulfuro de hidrógeno, preparada haciendo pasar H₂S a través de agua fría. Almacenarlo en botellas pequeñas de material inactivo, completamente llenas. No es apropiado a menos que posea un olor fuerte a H₂S y que produzca inmediatamente un precipitado copioso de sulfuro cuando se agrega a un volumen igual de cloruro férrico (SR). Almacenar en un sitio frío y oscuro.

Sulfuro de sodio (SR) - Disolver 1 g de sulfuro de sodio en agua para obtener 10 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Sulfuro de sodio (SR1) - Disolver en caliente 12 g de sulfuro de sodio en 45 ml de una mezcla de glicerina al 85 % p/p y agua (29:10). Dejar enfriar y diluir a 100 ml con la misma mezcla de solventes. La solución debe ser incolora.

Tartrato cúprico alcalino (SR) - (*Solución de Fehling*) - *Solución de cobre (A)* - Disolver 34,66 g de cristales pequeños, cuidadosamente seleccionados de sulfato cúprico, que no presenten trazas de fluorescencia por humedad adherida, en agua para obtener 500 ml. Almacenar esta solución en envases pequeños, de cierre perfecto. *Solución de tartrato alcalino (B)* - Disolver 173 g de tartrato de sodio y potasio cristalizado y 50 g de hidróxido de sodio en agua para obtener 500 ml. Almacenar esta solución en envases pequeños resistentes a los álcalis. Para usar, mezclar volúmenes exactamente iguales de Soluciones A y B en el momento requerido.

Tartrato de sodio (SR) - Disolver 11,5 g de tartrato de sodio en agua para obtener 100 ml.

Tetrabromofenoltaleinato de etilo (SR) - Disolver 100 mg de tetrabromofenoltaleinato de etilo en 90 ml de ácido acético glacial y diluir con ácido acético glacial a 100 ml. Preparar esta solución antes de usar.

Tetrafenilborato de sodio (SR) - Disolver 1,2 g de tetrafenilborato de sodio en agua para ob-

tener 200 ml. Si fuera necesario, agitar durante 5 minutos con 1 g de óxido de aluminio hidratado recientemente preparado y filtrar para clarificar.

Tetraiodomercurato de potasio alcalino (SR) - Disolver 11 g de ioduro de potasio y 15 g de ioduro mercúrico en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Mezclar esta solución con una solución de 250 mg de hidróxido de sodio por ml (1:1). [NOTA: Preparar esta solución en el momento de su empleo.]

Timolftaleína (SR) - Disolver 100 mg de timolftaleína en 100 ml de alcohol y filtrar, si fuera necesario.

Tioacetamida (SR) - Disolver 4 g de tioacetamida en 100 ml de agua.

Tioacetamida-glicerina básica (SR) - Mezclar 0,2 ml de tioacetamida (SR) y 1 ml de glicerina básica (SR) y calentar en un baño de agua a ebullición durante 20 segundos. Emplear la mezcla inmediatamente.

Tiocianato de amonio (SR) - Disolver 8 g de tiocianato de amonio en agua para obtener 100 ml.

Tiocianato mercúrico amónico (SR) - Disolver 30 g de tiocianato de amonio y 27 g de cloruro mercúrico en agua para obtener 1 litro.

Tioglicolato de sodio (SR) - Disolver 1,5 g de tioglicolato de sodio en 450 ml de agua y agregar 50 ml de alcohol. Emplear dentro de los 3 días de preparado.

Tiosulfato de sodio (SR) - Emplear Tiosulfato de sodio 0,1 N (ver *Soluciones volumétricas*).

Tornasol (SR) - Digerir 25 g de tornasol en polvo con tres porciones sucesivas de 100 ml de alcohol hirviendo, continuando cada extracción durante aproximadamente 1 hora. Filtrar, lavar con alcohol y descartar el filtrado alcohólico. Macerar el residuo con aproximadamente 25 ml de agua fría durante 4 horas, filtrar y descartar el filtrado. Finalmente digerir el residuo con 125 ml de agua hirviendo durante 1 hora, enfriar y filtrar.

Tricetohidrendeno monohidrato (SR) - Ver Ninhidrina (SR).

Tricloruro de antimonio (SR) - Disolver 20 g de tricloruro de antimonio en cloroformo hasta obtener 100 ml. Filtrar si fuera necesario.

Tricloruro de titanio (SR) - Disolver 15 g de tricloruro de titanio en 100 ml de solución de ácido clorhídrico al 10 %.

Tricloruro de titanio-ácido sulfúrico (SR) - Mezclar con cuidado 20 ml de tricloruro de titanio

(SR) en 13 ml de ácido sulfúrico. Agregar peróxido de hidrógeno al 30 % en cantidad suficiente para producir una coloración amarilla. Calentar hasta que se desprendan gases, dejar enfriar y diluir con agua. Repetir la evaporación y la adición de agua hasta que se obtenga una solución incolora. Diluir con agua a 100 ml.

Trinitrofenol (SR) - (*Ácido pícrico (SR)*) - Disolver el equivalente a 1 g de trinitrofenol anhidro en 100 ml de agua caliente. Enfriar la solución y filtrar, si fuera necesario.

Vanadato de amonio (SR) - Disolver 2,5 g de vanadato de amonio en 500 ml de agua hirviendo, enfriar y agregar 20 ml de ácido nítrico. Mezclar, enfriar y agregar agua para obtener 1 litro. Almacenar en envases de polietileno.

Verde de bromocresol (SR) - Disolver 50 mg de verde de bromocresol en 100 ml de alcohol y filtrar si fuera necesario.

Verde de bromocresol (SR1) - Disolver 50 mg de verde de bromocresol en 0,72 ml de hidróxido de sodio 0,1 N y 20 ml de alcohol. Completar a 100 ml con agua.

Ensayo de sensibilidad - A 0,2 ml de solución de verde de bromocresol, agregar 100 ml de agua libre de dióxido de carbono: la solución debe ser azul. El cambio de color del indicar al amarillo no debe requerir más de 0,2 ml de ácido clorhídrico 0,02 M.

Verde de malaquita (SR) - Disolver 1 g de verde de malaquita oxalato en 100 ml de ácido acético glacial.

Violeta de metilo (SR) - Ver Cristal violeta (SR).

SOLUCIONES VOLUMÉTRICAS (SV)

Soluciones normales - Las soluciones normales son soluciones que contienen el peso equivalente a 1 gramo de la sustancia activa en cada 1 litro de solución; esto es, una cantidad equivalente a 1,0079 gramos de hidrógeno o 7,9997 gramos de oxígeno.

Soluciones molares - Las soluciones molares son soluciones que contienen, en 1 litro, 1 molécula gramo de reactivo. Por ej., cada litro de una solución molar de ácido sulfúrico contiene 98,07 gramos de H₂SO₄.

Soluciones empíricas - Con frecuencia es difícil preparar soluciones estándar de una normalidad teórica deseada. Una solución de aproximadamente la normalidad deseada, se prepara y estandariza por titulación contra una solución de estándar primario. El factor de normalidad obtenido se emplea en

todos los cálculos cuando se empleen dichas soluciones empíricas. Si se desea, una solución preparada empíricamente puede diluirse hasta una normalidad determinada siempre que sea lo suficientemente concentrada para ser diluida.

Todas las soluciones volumétricas, obtenidas ya sea por disolución directa o por dilución de una solución más concentrada, deben mezclarse perfectamente por agitación antes de la normalización. Debido a que la concentración de una solución estándar puede cambiar con el tiempo, el factor debe determinarse nuevamente con frecuencia.

Cuando se emplean soluciones de un reactivo en diversas normalidades, los detalles de la preparación y estandarización se dan generalmente para la normalidad que se emplea más frecuentemente. Las soluciones más concentradas o más diluidas se preparan y estandarizan de la misma manera general según se describe, empleando cantidades proporcionales del reactivo. Es posible en muchos casos, preparar las soluciones de menor normalidad exactamente por dilución de una solución más concentrada. Las soluciones volumétricas preparadas por dilución se deben estandarizar nuevamente según se indica para la solución más concentrada o comparando con otra solución volumétrica que posea una relación conocida con la solución de mayor concentración.

Las soluciones diluidas que no son estables, como por ej., permanganato de potasio 0,01 N o tiosulfato de sodio diluido, son preferentemente preparadas al diluir exactamente la normalidad mayor con agua previamente hervida y enfriada.

Determinaciones con blancos - Cuando se indica que se debe hacer *las correcciones necesarias* por medio de una determinación con un blanco, la determinación se hará con las mismas cantidades de los mismos reactivos tratados de la misma manera de la solución o mezcla que contenga la porción de la sustancia en análisis, pero omitiendo dicha sustancia. En todas las valoraciones volumétricas de la Farmacopea deberán hacerse correcciones apropiadas debidas a la determinación del blanco (ver 780. *Volumetría*).

En todas las valoraciones de la Farmacopea de naturaleza volumétrica se indica el peso de la sustancia en análisis equivalente a cada ml de la solución volumétrica primaria. En general, estos equivalentes pueden obtenerse por cálculos sencillos a partir de los datos proporcionados en fórmulas y pesos moleculares.

PREPARACIÓN Y MÉTODOS DE ESTANDARIZACIÓN DE SOLUCIONES VOLUMÉTRICAS

A continuación se indica sólo un método para estandarizar pero pueden emplearse otros métodos de normalización, capaces de proporcionar al menos el mismo grado de exactitud. Los valores obtenidos en la estandarización de soluciones volumétricas son válidos para todos los usos farmacopeicos de estas soluciones, independientemente del instrumental o indicadores químicos empleados en las monografías correspondientes. Cuando la normalidad o molaridad aparente de una solución titulante depende de las condiciones especiales del uso, la monografía correspondiente establece las indicaciones para estandarizar el reactivo en el contexto especificado. Para aquellas sales que pueden obtenerse como estándar primarios certificados o altamente purificadas, se acepta preparar las soluciones pesando exactamente una cantidad apropiada de sal y disolviendo para producir un volumen específico de solución de concentración conocida. Los ácidos acético, clorhídrico y sulfúrico pueden estandarizarse contra una solución de hidróxido de sodio recientemente estandarizada contra un estándar primario certificado.

Cuando es posible, todas las soluciones volumétricas son preparadas, estandarizadas y empleadas a la temperatura estándar de 25 EC. Si la titulación se lleva a cabo con una solución volumétrica a una temperatura marcadamente diferente, estandarizar la solución volumétrica empleada como solución titulante a esa temperatura diferente o hacer una corrección apropiada de temperatura.

Ácido acético 2 N

$C_2H_4O_2$ - (PM: 60,1)
120,10 g en 1 litro.

Agregar 116 ml de ácido acético glacial a un volumen suficiente de agua, enfriar a temperatura ambiente y diluir con agua a 1 litro.

Ácido clorhídrico 1 N

HCl - (PM: 36,5)
36,46 g en 1 litro.

Diluir 85 ml de ácido clorhídrico con agua a 1 litro. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente alrededor de 5,0 g de trometamina, previamente secada a 105 °C durante 3 horas. Disolver en 50 ml de agua y agregar 2 gotas de verde de bromocresol (SR). Titular con ácido clorhídrico 1 N hasta punto final amarillo pálido. Calcular la normalidad. Cada 121,14 mg de trometamina equivale a 1 ml de ácido clorhídrico 1 N.

Ácido clorhídrico 0,5 N en metanol

HCl - (PM: 36,5)
18,23 g en 1 litro.

Agregar lentamente a un matraz aforado de 1 litro que contenga 40 ml de agua., Enfriar y completar a volumen con metanol. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente alrededor de 2,5 g de trometamina, previamente secada a 105 °C durante 3 horas. Proceder según se indica en Ácido Clorhídrico 1 N, comenzando donde dice: “*Disolver en 50 ml de agua...*”.

Ácido oxálico 0,1 N

$H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$ - (PM: 126,1)
6,303 g en 1 litro.

Disolver 6,45 g de ácido oxálico en agua hasta obtener 1 litro. Estandarizar mediante titulación contra permanganato de potasio 0,1 N (SV) recientemente estandarizado según se indica en Permanganato de potasio 0,1 N.

Almacenar en botellas de material inactivo con tapón de vidrio.

Ácido perclórico 0,1 N en ácido acético glacial

$HClO_4$ - (PM: 100,5)
10,05 g en 1 litro.

[NOTA: cuando en los ensayos y valoraciones se requiere esta solución volumétrica, se especifica como *ácido perclórico 0,1 N*. Por lo tanto, cuando se especifica 0,1 N u otra concentración de esta solución volumétrica, se empleará la solución en ácido acético glacial, a menos que se declaren las palabras *en dioxano* (Ver también Ácido perclórico 0,1 N en dioxano).]

Mezclar 8,5 ml de ácido perclórico con 500 ml de ácido acético glacial y 21 ml de anhídrido acético, enfriar y agregar ácido acético glacial hasta obtener 1 litro. Alternativamente, la solución puede prepararse del siguiente modo. Mezclar 11 ml de ácido perclórico al 60 % con 500 ml de ácido acético glacial y 30 ml de anhídrido acético, enfriar y agregar ácido acético glacial hasta obtener 1 litro.

Dejar reposar la solución preparada durante 1 día para que el anhídrido acético en exceso se combine y determinar el contenido de agua por *Titulación volumétrica directa* (ver 120. *Determinación de agua*). Si el contenido de agua excede 0,05 %, agregar más anhídrido acético. Si la solución no contiene agua tituable, agregar suficiente agua para obtener un contenido de entre 0,02 y 0,05 % de agua. Dejar reposar la solución durante 1 día y titular nuevamente el contenido de agua. La solución obtenida contiene entre 0,02 y 0,05 % de agua, indicando la ausencia de anhídrido acético.

Estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente alrededor de 700 mg de biftalato de potasio, previamente triturado y secado a 120 °C durante 2 horas y disolver en 50 ml de ácido acético glacial en un erlenmeyer de 250 ml. Agregar 2 gotas de cristal violeta (SR) y titular con solución de ácido perclórico hasta que el color cambie de violeta a verde-azulado. Descontar el volumen de ácido perclórico consumido por 50 ml del ácido acético glacial y calcular la normalidad. Cada 20,42 mg de biftalato de potasio equivale a 1 ml de ácido perclórico 0,1 N.

Ácido perclórico 0,1 N en dioxano

Mezclar 8,5 ml de ácido perclórico con suficiente dioxano, que ha sido especialmente purificado mediante adsorción, para obtener 1 litro. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente alrededor de 700 mg de biftalato de potasio, previamente reducido a polvo y secado a 120 °C durante 2 horas y disolver en 50 ml de ácido acético glacial en un erlenmeyer de 250 ml. Agregar 2 gotas de cristal violeta (SR) y titular con solución de ácido perclórico hasta que el color cambie de violeta a verde azulado. Descontar el volumen de ácido perclórico consumido por 50 ml del ácido acético glacial y calcular la normalidad. Cada 20,42 g de biftalato de potasio equivale a 1 ml de ácido perclórico 0,1 N.

Ácido sulfúrico 1 N

H_2SO_4 - (PM: 98,1)
49,04 g en 1 litro.

Agregar lentamente, agitando, 30 ml de ácido sulfúrico a aproximadamente 1020 ml de agua, dejar enfriar a 25 °C y determinar la normalidad titulando contra trometamina según se describe en Ácido clorhídrico 1 N.

Ácido sulfúrico 0,5 N en alcohol

H_2SO_4 - (PM: 98,1)
24,52 g en 1 litro.

Agregar lentamente, agitando, 13,9 ml de ácido sulfúrico a una cantidad suficiente de alcohol absoluto para obtener 1 litro. Enfriar y estandarizar contra trometamina según se describe en Ácido clorhídrico 0,5 N en metanol.

Arsenito de potasio 0,1 N

$KAsO_2$ - (PM: 146,0)
7,301 g en 1 litro.

Disolver 4,9455 g de trióxido de arsénico estándar primario, secado previamente a 105 °C durante 1 hora, en 75 ml de hidróxido de potasio 1 N. Agregar 40g de bicarbonato de potasio, disuelto en aproximadamente 200 ml de agua y diluir con agua a 1 litro.

Bromato de potasio 0,1 N

$KBrO_3$ - (PM: 167,0)
2,784 g en 1 litro.

Disolver 2,784 g de bromato de potasio en agua, diluir a 1 litro y estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 40 ml de la solución, exactamente medidos, a un erlenmeyer con tapón de vidrio, agregar 3 g de ioduro de potasio y continuar con 3 ml de ácido clorhídrico. Dejar reposar, durante 5 minutos luego titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregar 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Calcular la normalidad.

Bromo 0,1 N

Br - (PM: 79,9)
7,990 g en 1 litro.

Disolver 3 g de bromato de potasio y 15 g de bromuro de potasio en agua para obtener 1 litro y estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 25 ml de la solución, exactamente medidos, a un matraz de iodo de 500 ml y diluir con 120 ml de agua. Agregar 5 ml de ácido clorhídrico, tapar el matraz y agitar suavemente. Luego agregar 5 ml de ioduro de potasio (SR), tapar nuevamente, agitar la mezcla, dejar reposar durante 5 minutos y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Calcular la normalidad.

Almacenar en botella de material inactivo oscuro con tapón de vidrio.

Bromuro-Bromato de potasio 0,1 N

Disolver 2,78 g de bromato de potasio ($KBrO_3$) y 12,0 g de bromuro de potasio (KBr) en agua y diluir con agua a 1 litro. Estandarizar según el procedimiento dado para Bromato de potasio 0,1 N.

Bromuro de tetrametilamonio 0,1 M

$(CH_3)_4NBr$ - (PM: 154,1)
15,41 g en 1 litro.

Disolver 15,41 g de bromuro de tetrametilamonio en agua hasta obtener 1 litro y estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 40 ml de la solución, exactamente medidos, a un vaso de precipitados, agregar 10 ml de ácido nítrico diluido y 50,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV) y mezclar. Agregar 2 ml de sulfato férrico amónico (SR) y titular el exceso de nitrato de plata con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Calcular la molaridad.

Cloruro de bario 0,1 M

BaCl₂ - (PM: 208,3)

24,4 g en 1 litro.

Disolver 24,4 g de cloruro de bario en agua y diluir a 1 litro con el mismo solvente y estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 10 ml de la solución obtenida, agregar 60 ml de agua, 3 ml de amoníaco concentrado, aproximadamente 1 mg de púrpura de ftaleína y titular con edetato disódico 0,1 M (SV). Cuando la solución comienza a decolorarse, agregar 50 ml de alcohol y continuar la titulación hasta la desaparición de la coloración azul violeta.

Cloruro de tetrametilamonio 0,1 M

(CH₃)₄NCl - (PM: 109,6)

10,96 g en 1 litro.

Disolver 10,96 g de cloruro de tetrametilamonio en agua para obtener 1 litro y estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 40 ml de la solución, exactamente medidos, a un erlenmeyer, agregar 10 ml de ácido nítrico diluido y 50,0 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV) y mezclar. Agregar 5 ml de nitrobenzono y 2 ml de sulfato férrico amónico (SR), agitar y titular el exceso de nitrato de plata con tiocianato de amonio 0,1 N (SV). Calcular la molaridad.

Cloruro de Bencetonio 0,004 M

C₂₇H₄₂ClNO₂ - (PM: 448,1)

1,792 g en 1 litro.

Disolver 1,792 g de Cloruro de Bencetonio, previamente secado a 100 - 105 °C hasta peso constante, en agua para obtener 1 litro y estandarizar la solución del siguiente modo.

Calcular la molaridad de la solución teniendo en cuenta la cantidad de C₂₇H₄₂ClNO₂ en el cloruro de bencetonio desecado. La determinación se realiza como sigue: transferir 350 mg de cloruro de bencetonio, previamente secado, a un erlenmeyer de 250 ml y disolver en 30 ml de ácido acético glacial (SR). Agregar 6 ml de acetato mercúrico (SR), 0,05 ml de cristal violeta (SR) como indicador y titular con ácido perclórico 0,1 M. Realizar una titulación del blanco. Cada 44,81 mg de Cloruro de Bencetonio equivale a 1 ml de ácido perclórico 0,1 M.

Dicromato de potasio 0,1 N

K₂Cr₂O₇ - (PM: 294,2)

4,903 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 5 g de dicromato de potasio en 1 litro de agua. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir 25,0 ml de esta solución a un erlenmeyer de 500 ml con tapón de vidrio, agregar 2 g de ioduro de potasio (libre de iodato), diluir con 200 ml de agua, agregar 5 ml de ácido clorhídrico, dejar reposar durante 10 minutos en un sitio oscuro y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Calcular la normalidad.

Edetato disódico 0,05 M

C₁₀H₁₄N₂Na₂O₈ · 2H₂O - (PM: 372,2)

18,61 g en 1 litro.

Disolver 18,6 g de edetato sódico en agua para obtener 1 litro y estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de carbonato de calcio estándar para quelatometría, previamente secado a 110°C durante 2 horas, y enfriar en un desecador. Transferir a un vaso de precipitados de 400 ml, agregar 10 ml de agua y agitar por rotación para formar una suspensión. Cubrir el vaso de precipitados con un vidrio de reloj y transferir 2 ml de ácido clorhídrico diluido con una pipeta insertada entre el borde del vaso de precipitados y el borde del vidrio de reloj. Agitar por rotación el contenido del vaso de precipitados para disolver el carbonato de calcio. Lavar las paredes del vaso de precipitados, la superficie exterior de la pipeta y el vidrio de reloj con agua y diluir con agua hasta aproximadamente 100 ml. Agregar mientras se agita la solución, preferentemente con un agitador magnético, aproximadamente 30 ml de la solución de edetato sódico desde una bureta de 50 ml. Agregar 15 ml de hidróxido de sodio (SR) y 300 mg de indicador de azul de hidroxí naftol y continuar la titulación con la solución de edetato sódico hasta punto final azul. Calcular la molaridad, por la fórmula siguiente:

$$P/(100,09V)$$

en la cual *P* es el peso, en mg, de CaCO₃ en la porción de carbonato de calcio tomada y *V* es el volumen, en ml, de la solución de edetato disódico consumida.

Edetato disódico 0,1 M

C₁₀H₁₄N₂Na₂O₈ · 2H₂O - (PM: 372,2)

37,5 g en 1 litro.

Disolver 37,5 g de edetato disódico en 500 ml de agua, agregar 100 ml de hidróxido de sodio al 4 % y diluir a 1 litro con agua. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente alrededor de 120 mg de grallas de Cinc, transferir a un recipiente adecuado, disolver en 4 ml de ácido clorhídrico y agregar 0,1 ml de agua de bromo (SR). Calentar a ebullición para eliminar el exceso de bromo y luego agregar hidróxido de sodio al 8,5 % hasta reacción ligeramente ácida o neutra. Transferir la solución anterior a un erlenmeyer de 500 ml y diluir a 200 ml con agua. Agregar 50 mg de naranja de xilenol y hexametilentetramina hasta coloración violeta-rosado. Agregar 2 g más de hexametilentetramina y titular con edetato disódico 0,1 M (SV) hasta punto final amarillo. Calcular la molaridad de la solución. Cada 6,54 mg de Cinc equivale a 1 ml de edetato disódico 0,1 M (SV).

Ferricianuro de potasio 0,05 M

$K_3Fe(CN)_6$ - (PM: 329,3)
16,46 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 17 g de ferricianuro de potasio en agua para obtener 1 litro. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir 50,0 ml de esta solución a un erlenmeyer con tapón de vidrio, de 500 ml, diluir con 50 ml de agua, agregar 10 ml de ioduro de potasio (SR) y 10 ml de ácido clorhídrico diluido y dejar reposar durante 1 minuto. Luego agregar 15 ml de solución de sulfato de cinc (1 en 10) y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Calcular la molaridad.

Proteger de la luz y volver a estandarizar antes de emplear.

Hidróxido de potasio 1 N

KOH - (PM: 56,1)
56,11 g en 1 litro.

Disolver 68 g de hidróxido de potasio en aproximadamente 950 ml de agua. Agregar una solución saturada recientemente preparada de hidróxido de bario hasta que no se forme más precipitado. Agitar la mezcla a fondo y dejar reposar durante toda la noche en una botella tapada. Decantar el líquido transparente o filtrar la solución en una botella de poliolefina de cierre perfecto y estandarizar según el procedimiento dado para *Hidróxido de sodio 1 N*.

Hidróxido de potasio alcohólico 0,5 N

28,06 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 34 g de hidróxido de potasio en 20 ml de agua y agregar alcohol libre de aldehído para obtener 1 litro. Dejar reposar la solución en una botella de cierre perfecto durante 24 horas. Luego decantar rápidamente el líquido sobrenadante transparente en un envase apropiado,

cerrado perfectamente, y estandarizar la solución del siguiente modo.

Medir exactamente alrededor de 25 ml de ácido clorhídrico 0,5 N (SV). Diluir con 50 ml de agua, agregar 2 gotas de fenolftaleína (SR) y titular con solución de hidróxido de potasio alcohólico hasta que se produzca un color rosado pálido permanente. Calcular la normalidad.

[NOTA: almacenar en botellas de cierre perfecto, protegidas de la luz].

Hidróxido de potasio metanólico 0,1 N

5,612 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 6,8 g de hidróxido de potasio en 4 ml de agua y agregar metanol para obtener 1 litro. Dejar reposar la solución en una botella de cierre perfecto durante 24 horas. Luego decantar rápidamente el líquido sobrenadante transparente en un envase apropiado, cerrado perfectamente, y estandarizar la solución del siguiente modo.

Medir exactamente alrededor de 25 ml de ácido clorhídrico 0,1 N (SV). Diluir con 50 ml de agua, agregar 2 gotas de fenolftaleína (SR) y titular con la solución de hidróxido de potasio metanólico hasta que se produzca un color rosado pálido permanente. Calcular la normalidad.

[NOTA: almacenar en botellas de cierre perfecto, protegidas de la luz].

Hidróxido de sodio 1 N

NaOH - (PM: 40,0)
40,00 g en 1 litro.

Disolver 162 g de hidróxido de sodio en 150 ml de agua, enfriar la solución a temperatura ambiente y filtrar a través de papel de filtro endurecido. Transferir 54,5 ml del filtrado transparente a un envase de poliolefina de cierre perfecto y diluir con agua hasta obtener 1 litro.

Pesar exactamente alrededor de 5 g de biftalato de potasio, previamente triturado y secado a 120 °C durante 2 horas, y disolver en 75 ml de agua. Agregar 2 gotas de fenolftaleína (SR) y titular con la solución de hidróxido de sodio hasta la producción de color rosado permanente. Cada 204,2 mg de biftalato de potasio equivale a 1 ml de hidróxido de sodio 1 N.

[NOTAS: (1) las soluciones de hidróxidos alcalinos absorben dióxido de carbono cuando se exponen al aire. Deben conservarse en botellas perfectamente cerradas con tapones apropiados conectados con un tubo lleno con una mezcla de hidróxido de sodio y cal (tubo de soda cáustica) para que el aire que penetre en el envase deba pasar a través de este tubo, que absorberá el dióxido de carbono. (2) Preparar soluciones de concentración inferior (por

ej., 0,1 N, 0,01 N) mediante la dilución cuantitativa, de volúmenes exactamente medidos de la solución 1 N, con suficiente agua para obtener la concentración deseada].

[NOTA: volver a estandarizar la solución con frecuencia].

Hidróxido de sodio alcohólico 0,1 N

13,2 g en 1 litro.

A 200 ml de alcohol, agregar 3,3 g de una solución de hidróxido de sodio al 42 %. Estandarizar la solución del siguiente modo:

Disolver 200 mg de ácido benzoico estándar primario en una mezcla de 10 ml de alcohol y 2 ml de agua. Titular con hidróxido de sodio alcohólico 0,1 N en presencia de 0,2 ml de timolftaleína (SR). Cada ml de esta solución equivale a 12,21 mg de $C_7H_6O_2$.

Hidróxido de tetrabutylamonio 0,1 N

$(C_4H_9)_4NOH$ - (PM: 259,5)

25,95 g en 1 litro.

Disolver 40 g de ioduro de tetra-butylamonio en 90 ml de metanol anhidro en un erlenmeyer con tapón de vidrio. Colocar en un baño de hielo, agregar 20 g de óxido de plata reducido a polvo, tapar el erlenmeyer y agitar vigorosamente durante 60 minutos. Centrifugar unos pocos ml y someter el líquido sobrenadante a el ensayo de ioduro (ver *Ioduro* en 410. *Ensayos generales de identificación*). Si el ensayo fuera positivo, agregar 2 g de óxido de plata adicionales y dejar reposar durante 30 minutos agitando intermitentemente. Cuando todo el ioduro haya reaccionado, filtrar a través de un embudo de vidrio sinterizado. Enjuagar el erlenmeyer y el embudo con tres porciones de 50 ml de tolueno anhidro, agregando los enjuagues al filtrado. Diluir con una mezcla de 3 volúmenes de tolueno anhidro y 1 volumen de metal anhidro hasta 1 litro y lavar la solución durante 10 minutos con nitrógeno libre de dióxido de carbono. [NOTA: si fuera necesario obtener una solución transparente, se pueden agregar cantidades aún más pequeñas de metanol anhidro]. Conservar en un recipiente protegido del dióxido de carbono y la humedad y descartar después de 60 días de preparado. Alternativamente, la solución puede prepararse al diluir un volumen apropiado de solución de hidróxido de tetrabutylamonio en metanol comercialmente disponible con una mezcla de 4 volúmenes de tolueno anhidro y 1 volumen de metanol anhidro. [NOTA: si fuera necesario obtener una solución transparente, se pueden agregar cantidades aún más pequeñas de metanol].

Estandarizar la solución el día de uso del siguiente modo. Disolver aproximadamente 400 mg

de ácido benzoico estándar primario, exactamente pesados, en 80 ml de dimetilformamida, agregar 3 gotas de una solución 1 en 100 de azul de timol en dimetilformamida y titular hasta punto final azul con la solución de hidróxido de tetrabutylamonio, descargando la solución titulante desde una bureta equipada con una trampa de absorción de dióxido de carbono. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Cada ml de hidróxido tetrabutylamonio 0,1 N equivale a 12,21 mg de ácido benzoico.

Iodato de potasio 0,05 M

KIO_3 - (PM: 214,0)

10,70 g en 1 litro.

Disolver 10,700 g de iodato de potasio, previamente secado a 110 °C hasta peso constante, en agua para obtener 1 litro.

Iodo 0,1 N

I - (PM: 126,9)

12,69 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 14 g de iodo en una solución de 36 g de ioduro de potasio en 100 ml de agua, agregar 3 gotas de ácido clorhídrico, diluir con agua a 1 litro y estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir 25,0 ml de la solución de iodo a un matraz aforado de 250 ml, diluir hasta 100 ml y titular con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV) hasta que la solución adquiera un color amarillo pálido. Añadir 2 ml de almidón (SR) y continuar titulando hasta que la solución sea incolora. Calcular la normalidad.

Conservar en botellas de material inactivo con tapón de vidrio.

Iodo 0,05 M

I - (PM: 126,9)

12,7 g en 1 litro.

KI - (PM: 166,0)

20 g en 1 litro-

Disolver 12,7 g de iodo y 20 g de ioduro de potasio en agua y diluir con el mismo solvente a 1000 ml. Estandarizar la solución por titulación contra una solución preparada disolviendo 80 mg de anhídrido arsenioso en una mezcla de 10 ml de hidróxido de sodio diluido y 10ml de agua, a la cual se le agregan 10 ml de ácido clorhídrico diluido y 3 g de bicarbonato de sodio. Valorar en presencia de 1 ml de almidón. Calcular la molaridad.

Conservar en envases inactivos.

Metóxido de litio 0,1 N en benceno

CH_3OLi - (PM: 38,0)

3,798 g en 1 litro.

Disolver 0,6 g de litio metálico recientemente cortado en 150 ml de metanol, enfriando el erlenmeyer durante el agregado del metal. Cuando se completa la reacción, agregar 850 ml de benceno. Si aparece opalescencia o precipitación, agregar metanol suficiente para volver la solución transparente. Almacenar preferentemente en el reservorio de una bureta automática apropiadamente protegida del dióxido de carbono y la humedad. Estandarizar la solución por titulación contra ácido benzoico según se indica en Metóxido de sodio 0,1 N en tolueno.

[NOTA: volver a estandarizar la solución con frecuencia].

Metóxido de litio 0,1 N en clorobenceno

CH_3OLi - (PM: 38,0)
3,798 g en 1 litro.

Disolver 0,7 g de litio metálico recientemente cortado en 150 ml de metanol, enfriando el erlenmeyer durante el agregado del metal. Cuando se completa la reacción, agregar 850 ml de clorobenceno. Si aparece opalescencia o precipitación, agregar metanol suficiente para aclarar la solución. Almacenar preferentemente en el reservorio de una bureta automática apropiadamente protegida del dióxido de carbono y la humedad. Estandarizar la solución por titulación contra ácido benzoico según se indica en Metóxido de sodio 0,1 N en tolueno.

[NOTA: volver a estandarizar la solución con frecuencia].

Metóxido de litio 0,02 N en metanol

CH_3LiO - (PM: 38,0)
759,6 mg en 1 litro.

Disolver 0,12 g de litio metálico recientemente cortado en 150 ml de metanol, enfriando el erlenmeyer durante el agregado del metal. Cuando se completa la reacción, agregar 850 ml de metanol y mezclar. Almacenar la solución preferentemente en el reservorio de una bureta automática apropiadamente protegida del dióxido de carbono y la humedad. Estandarizar la solución por titulación contra ácido benzoico según se indica en Metóxido de sodio 0,1 N en tolueno, pero emplear sólo 100 mg de ácido benzoico. Cada 2,442 mg de ácido benzoico equivale a 1 ml de metóxido de litio 0,02 N.

[NOTA: volver a estandarizar la solución con frecuencia].

Metóxido de sodio 0,1 N en tolueno

CH_3ONa - (PM: 54,0)
5,402 g en 1 litro.

Enfriar en un baño de agua helada 150 ml de metanol contenidos en un matraz aforado de 1 litro y agregar, en porciones pequeñas, aproximadamen-

te 2,5 g de sodio metálico recientemente cortado. Cuando el metal se ha disuelto, completar a volumen con tolueno y mezclar. Almacenar preferentemente en el recipiente de una bureta automática apropiadamente protegida del dióxido de carbono y la humedad. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente alrededor de 400 mg de ácido benzoico estándar primario y disolver en 80 ml de dimetilformamida en un erlenmeyer. Agregar 3 gotas de una solución 1 en 100 de azul de timol en dimetilformamida y titular con metóxido de sodio hasta punto final azul. Corregir por el volumen de solución de metóxido de sodio consumido por 80 ml de la dimetilformamida y calcular la normalidad. Cada 12,21 mg de ácido benzoico equivale a 1 ml de metóxido de sodio 0,1 N.

[NOTAS: (1) para eliminar la turbidez que puede formarse después de la dilución con tolueno, agregar metanol (25 a 30 ml son generalmente suficientes) hasta que la solución se vuelva transparente. (2) Volver a estandarizar la solución con frecuencia].

Metóxido de sodio 0,5 N en metanol

CH_3ONa - (PM: 54,0)
27,01 g en 1 litro.

Pesar 11,5 g de sodio metálico recientemente cortado en cubos pequeños. Transferir aproximadamente 0,5 ml de metanol anhidro en un balón de 250 ml equipado con una junta de vidrio esmerilado, agregar 1 cubo de sodio metálico y cuando la reacción haya cesado, agregar al balón el resto del sodio metálico. Conectar al balón un refrigerante y agregar lentamente 250 ml de metanol anhidro, en porciones pequeñas, a través de la parte superior del refrigerante. Regular el agregado del metanol de manera que los vapores se condensen y no se escapen por la parte superior del refrigerante. Luego que se ha completado el agregado del metanol, conectar un tubo de secado a la parte superior del refrigerante y dejar enfriar la solución. Transferir la solución a un matraz aforado de 1 litro, completar a volumen con metanol anhidro y mezclar. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 20 ml de ácido clorhídrico 1 N (SV), recientemente estandarizado y exactamente medidos, a un erlenmeyer de 250 ml, agregar 0,25 ml de fenolfaleína (SR) y titular con la solución de metóxido de sodio hasta la primera aparición de un color rosado permanente. Calcular la normalidad.

Morfolina 0,5 N en metanol

$\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}$ - (PM: 87,1)
43,56 g en 1 litro.

Transferir 44 ml de morfolina recientemente destilada a una botella para reactivos de 1 litro y agregar metanol hasta completar aproximadamente 1 litro. Proteger de la absorción de dióxido de carbono durante la remoción de alícuotas. No es necesario estandarizar esta solución.

Nitrato cérico amónico 0,05 N

$Ce(NO_3)_4 \cdot 2NH_4NO_3$ - (PM: 548,2)
2,741 g en 100 ml

Disolver 2,75 g de nitrato cérico amónico en ácido nítrico 1 N para obtener 100 ml de solución y filtrar. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir exactamente 10 ml de sulfato ferroso amónico 0,1 N (SV) recientemente estandarizado a un erlenmeyer y diluir con agua hasta aproximadamente 100 ml. Agregar 1 gota de nitrofenantrolina (SR) y titular con la solución de nitrato cérico amónico hasta punto final incoloro. Calcular la normalidad a partir del volumen tomado de sulfato ferroso amónico 0,1N (SV) y el volumen de solución de nitrato cérico amónico consumido.

Nitrato cúprico 0,1 N

$Cu(NO_3)_2 \cdot 2,5H_2O$ - (PM: 232,6)
23,26 g en 1 litro.
 $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$ - (PM: 241,6)
24,16 g en 1 litro.

Disolver 23,3 g de nitrato cúprico 2,5 hidratado, ó 24,2 g del trihidratado, en agua para obtener 1 litro. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir 20,0 ml de la solución a un vaso de precipitados de 250 ml. Agregar 2 ml de nitrato de sodio 5 M, 20 ml de acetato de amonio (SR) y suficiente agua para obtener 100 ml. Titular con edetato disódico 0,05 M (SV). Determinar el punto final potenciométricamente empleando un electrodo de referencia de doble junta para ion cúprico. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Calcular la normalidad por la fórmula siguiente:

$$VM/20,0$$

en la cual V es el volumen, en ml, de edetato disódico consumido, M es la molaridad del edetato disódico y 20,0 es el número de ml tomados de la solución de nitrato cúprico.

Nitrato de plata 0,1 N

$AgNO_3$ - (PM: 169,9)
16,99 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 17,5 g de nitrato de plata en 1 litro de agua y estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 100 mg, exactamente pesados, de cloruro de sodio grado reactivo,

previamente secado a 110 °C durante 2 horas, a un vaso de precipitados de 150 ml, disolver en 5 ml de agua y agregar 5 ml de ácido acético, 50 ml de metanol y 0,5ml gotas de eosina (SR). Agitar, preferentemente con un agitador magnético y titular con solución de nitrato de plata. Calcular la normalidad.

Nitrato mercúrico 0,1 M

$Hg(NO_3)_2$ - (PM: 324,6)
32,46 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 35 g de nitrato mercúrico en una mezcla de 5 ml de ácido nítrico y 500ml de agua y diluir con agua a 1 litro. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 20 ml de la solución, exactamente medidos, a un erlenmeyer y agregar 2 ml de ácido nítrico y 2 ml de sulfato férrico amónico (SR). Enfriar por debajo de 20 °C y titular con tiocianato de amonio 0,1 N (SV) hasta la primera aparición de un color pardusco permanente. Calcular la molaridad.

Nitrito de sodio 0,1 M

$NaNO_2$ - (PM: 69,0)
6,900 g en 1 litro.

Disolver 7,5 g de nitrito de sodio en agua para obtener 1 litro y estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente alrededor de 500 mg de Sulfanilamida SR-FA, secar previamente a 105 °C durante 3 horas y transferir a un vaso de precipitados apropiado. Agregar 20 ml de ácido clorhídrico y 50 ml de agua, agitar hasta disolución y enfriar a 15 °C. Mantener la temperatura aproximadamente a 15 °C, titular lentamente con solución de nitrito de sodio, colocando la punta de la bureta debajo de la superficie de la solución para evitar la oxidación del nitrito de sodio por el aire y agitar la solución suavemente con un agitador magnético, pero evitar la formación de un vórtice de aire debajo de la superficie. Emplear el indicador especificado en la monografía individual o, si se especifica un procedimiento potenciométrico, determinar el punto final electrométricamente, empleando electrodos de platino-calomel o platino-platino. Cuando la titulación está cerca de 1 ml del punto final, agregar la solución titulante en porciones de 0,1 ml y esperar 1 minuto entre cada agregado. Calcular la molaridad. Cada 17,22 mg de sulfanilamida equivale a 1 ml de nitrito de sodio 0,1000 M.

Permanganato de potasio 0,1 N

$KMnO_4$ - (PM: 158,0)
3,161 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 3,3 g de permanganato de potasio en 1 litro de agua en un erlenmeyer

y calentar a ebullición la solución durante aproximadamente 15 minutos. Insertar el tapón en el erlenmeyer, dejar reposar durante al menos 2 días y filtrar a través de un crisol de vidrio sinterizado de porosidad fina. Si fuera necesario, el fondo del crisol de vidrio sinterizado puede revestirse con una torunda de lana de vidrio. Estandarizar la solución del siguiente modo:

Pesar exactamente alrededor de 200 mg de oxalato de sodio, previamente secado a 110 °C hasta peso constante, y disolver en 250 ml de agua. Agregar 7 ml de ácido sulfúrico, calentar a aproximadamente 70 °C y luego agregar lentamente la solución de permanganato desde una bureta, con agitación constante, hasta que se produzca un color rosado pálido, que persista durante 15 segundos. La temperatura, al finalizar la titulación no debe ser menor de 60 °C. Calcular la normalidad. Cada 6,700 mg de oxalato de sodio equivale a 1 ml de permanganato de potasio 0,1N.

Dado que el permanganato de potasio se reduce en contacto con sustancias orgánicas, como por ej., goma, la solución debe manipularse en aparatos enteramente contruidos de vidrio u otro material apropiadamente inerte. Debe volver a estandarizarse con frecuencia. Almacenar en botellas de vidrio color ámbar con tapón.

Solución estándar de diclorofenol-indofenol

A 50 mg de 2,6-diclorofenol-indofenol sódico que haya sido almacenado en un desecador sobre cal sodada, agregar 50 ml de agua que contengan 42 mg de bicarbonato de sodio, agitar vigorosamente y cuando se disuelve el colorante, agregar agua hasta obtener 200 ml. Filtrar en una botella ámbar con tapón de vidrio. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir 50 mg de Ácido ascórbico SR-FA, exactamente pesados, a un matraz aforado de 50 ml con tapón de vidrio con la ayuda de un volumen suficiente de ácido metafosfórico - ácido acético (SR) para obtener 50 ml. Transferir inmediatamente 2 ml de la solución de ácido ascórbico a un erlenmeyer de 50 ml que contenga 5 ml de ácido metafosfórico - ácido acético (SR) y titular rápidamente con solución de diclorofenol-indofenol hasta que un color rosado característico persista durante al menos 5 segundos. Realizar una determinación con un blanco titulado 7 ml de ácido metafosfórico - ácido acético (SR) más un volumen de agua igual al volumen de la solución de diclorofenol empleada para titular la solución de ácido ascórbico. Expresar la concentración de esta solución estándar en función de su equivalente en mg de ácido ascórbico.

Sulfato cérico 0,1 N

$Ce(SO_4)_2$ - (PM: 332,2)
33,22 g en 1 litro.

Transferir 59 g de nitrato cérico amónico a un matraz aforado de 1 litro, agregar una solución de ácido sulfúrico preparada disolviendo 30 ml de ácido sulfúrico en 500 ml de agua y mezclar. Completar a volumen con agua. Dejar reposar durante toda la noche y filtrar a través de un crisol de porosidad fina de vidrio sinterizado, si es necesario. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente 200 mg de trióxido de arsénico, previamente secado a 105 °C durante 1 hora, y transferir a un erlenmeyer de 500 ml. Lavar las paredes internas del erlenmeyer con 25 ml de solución de hidróxido de sodio (2 en 25), agitar por rotación hasta disolver la sustancia y cuando la disolución se completa, agregar 100 ml de agua y mezclar. Agregar 10 ml de ácido sulfúrico diluido (1 en 3), luego agregar 2 gotas de ortofenantrolina (SR) y un pequeño cristal de yodo como catalizador. Agitar y titular lentamente con solución de sulfato cérico hasta que el color rosado cambie a azul pálido. Calcular la normalidad. Cada 4,946 mg de trióxido de arsénico equivale a 1 ml de sulfato cérico 0,1 N.

Sulfato de cinc 0,05 M

$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ - (PM: 287,5)
14,4 g en 1 litro.

Disolver 14,4 g de sulfato de cinc en agua para obtener 1 litro. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 10 ml de edetato disódico 0,05 M (SV), exactamente medidos, a un erlenmeyer de 125 ml y agregar, en el orden dado, 10 ml de solución reguladora de ácido acético - acetato de amonio (SR), 50 ml de alcohol y 2 ml de ditizona (SR). Titular con solución de sulfato de cinc hasta obtener una solución transparente de color rosado. Calcular la molaridad.

Sulfato de cobre 0,02 M

$CuSO_4$ - (PM: 159,5)
5,0 g en 1 litro.

Disolver 5,0 g de sulfato de cobre en agua y diluir a 1 litro con el mismo solvente. Estandarizar la solución del siguiente modo.

A 20,0 ml de la solución de sulfato de cobre, agregar 2 g de acetato de sodio y 0,1 ml de piridilazonaftol (SR). Titular con edetato disódico 0,02 M (SV) hasta viraje de azul violeta a verde esmeralda. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Calcular la normalidad.

Sulfato férrico amónico 0,1 N

$FeNH_4(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ - (PM: 482,2)

48,22 g en 1 litro.

Disolver 50 g de sulfato férrico amónico en una mezcla de 300 ml de agua y 6 ml de ácido sulfúrico, diluir con agua a 1 litro y mezclar. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 40 ml de la solución, exactamente medidos, a un erlenmeyer con tapón de vidrio, agregar 5 ml de ácido clorhídrico, mezclar y agregar una solución de 3 g de ioduro de potasio en 10 ml de agua. Tapar, dejar reposar durante 10 minutos y titular el iodo liberado con tiosulfato de sodio 0,1 N (SV), agregando 3 ml de almidón (SR) cerca del punto final. Realizar una determinación con un blanco y hacer las correcciones necesarias. Calcular la normalidad.

Almacenar en envases inactivos de cierre perfecto.

Sulfato ferroso amónico 0,1 N

$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 392,1)
39,21 g en 1 litro.

Disolver 40 g de sulfato ferroso amónico en una mezcla previamente enfriada de 40 ml de ácido sulfúrico y 200 ml de agua, diluir con agua a 1 litro y mezclar. Un momento antes de usar, estandarizar la solución del siguiente modo:

Transferir entre 25 y 30 ml de la solución, exactamente medidos, a un erlenmeyer, agregar 2 gotas de ortofenantrolina (SR) y titular con sulfato cérico 0,1 N (SV) hasta que el color cambie de rojo a azul pálido. Calcular la normalidad a partir del volumen de sulfato cérico 0,1 N consumido.

Tetrafenilborato de sodio 0,02 M

$\text{NaB}(\text{C}_6\text{H}_5)_4$ - (PM: 342,2)
6,845 g en 1 litro.

Disolver una cantidad de tetrafenilborato de sodio, equivalente a 6,845 g de $\text{NaB}(\text{C}_6\text{H}_5)_4$, en agua para obtener 1 litro y estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir dos porciones de 75 ml de la solución a sendos vasos de precipitados y agregar a cada uno 1 ml de ácido acético y 25 ml de agua. Agregar lentamente a cada vaso de precipitados y con agitación constante, 25 ml de solución de biftalato de potasio (1 en 20) y dejar reposar durante 2 horas. Filtrar una de las mezclas a través de un crisol filtrante y lavar el precipitado con agua fría. Transferir el precipitado a un envase, agregar 50 ml de agua, agitar intermitentemente durante 30 minutos, filtrar y emplear el filtrado como solución saturada de tetrafenilborato de potasio en el siguiente procedimiento de estandarización. Filtrar la segunda mezcla a través de un crisol filtrante tarado y lavar el precipitado con tres porciones de 5 ml de solución saturada de tetrafenilborato de potasio. Secar

el precipitado a 105 °C durante 1 hora. Cada g de tetrafenilborato de potasio equivale a 955,1 mg de tetrafenilborato de sodio. A partir del peso de tetrafenilborato de sodio obtenido, calcular la molaridad de la solución de tetrafenilborato de sodio.

[NOTA: preparar esta solución el día de uso.]

Tiocianato de amonio 0,1 N

NH_4SCN - (PM: 76,1)
7,612 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 8 g de tiocianato de amonio en 1 litro de agua y estandarizar la solución del siguiente modo.

Transferir aproximadamente 30 ml de nitrato de plata 0,1 N (SV), exactamente medidos, a un erlenmeyer con tapón de vidrio. Diluir con 50 ml de agua, luego agregar 2 ml de ácido nítrico y 2 ml de sulfato férrico amónico (SR) y titular con solución de tiocianato de amonio hasta la aparición de un color rojo pardo incipiente. Calcular la normalidad.

Si se desea, puede reemplazarse el tiocianato de amonio 0,1 N por tiocianato de potasio 0,1 N cuando el primero se indica en un ensayo o valoración.

Tiosulfato de sodio 0,1 N

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - (PM: 248,2)
24,82 g en 1 litro.

Disolver aproximadamente 26 g de tiosulfato de sodio y 200 mg de carbonato de sodio en 1 litro de agua recientemente sometida a ebullición y enfriada. Estandarizar la solución del siguiente modo.

Pesar exactamente alrededor de 210 mg de dicromato de potasio estándar primario, previamente reducido a polvo y secado a 120 °C durante 4 horas, y disolver en 100 ml de agua en un erlenmeyer de 500 ml con tapón de vidrio. Agitar por rotación hasta disolver el sólido, retirar el tapón y agregar rápidamente 3 g de ioduro de potasio, 2 g de bicarbonato de sodio y 5 ml de ácido clorhídrico. Tapar suavemente en el erlenmeyer, agitar por rotación para mezclar y dejar reposar en la oscuridad durante 10 minutos. Enjuagar el tapón y las paredes internas del erlenmeyer con agua y titular el iodo liberado con solución de tiosulfato de sodio hasta que la solución tome color verde amarillento. Agregar 3 ml de almidón (SR) y continuar la titulación hasta que desaparezca el color azul. Calcular la normalidad.

Estandarizar la solución frecuentemente semanalmente.

Tricloruro de titanio 0,1 N

TiCl_3 - (PM: 154,2)
15,42 g en 1 litro.

Agregar 75 ml de solución de tricloruro de titanio (1 en 5) a 75 ml de ácido clorhídrico, diluir

hasta 1 litro y mezclar. Estandarizar la solución del siguiente modo, empleando el aparato especial de titulación descripto.

Aparato - Almacenar la solución de tricloruro de titanio en el recipiente de un aparato de titulación de sistema cerrado en una atmósfera de hidrógeno.

Emplear un erlenmeyer de 500 ml de boca ancha como recipiente de titulación y conectar a la bureta de titulación un tubo de entrada para dióxido de carbono y un tubo de salida a través de un tapón de goma. Adaptar un agitador mecánico. Todas las juntas deben ser herméticas. Preparar el aparato de manera que, tanto el hidrógeno como el dióxido de carbono pasen a través de botellas de lavado que contengan solución de tricloruro de titanio (aproximadamente 1 en 50) para eliminar el oxígeno.

Si la solución a titular se calienta antes o durante la titulación, conectar el matraz de titulación con un refrigerante en posición vertical a través del tapón de goma.

Estandarización - Transferir aproximadamente 40 ml de sulfato férrico amónico 0,1 N (SV), exactamente medidos, a un matraz de titulación y pasar una corriente rápida de dióxido de carbono hasta eliminar todo el aire. Agregar la solución de tricloruro de titanio desde la bureta hasta cerca del punto final calculado (aproximadamente 35 ml), luego agregar a través del tubo de salida, 5 ml de tiocianato de amonio (SR) y continuar la titulación hasta que la solución sea incolora. Calcular la normalidad.

SOLUCIONES LIMITES (SL)

Solución de aluminio (200 ppm) (SL) - Disolver una cantidad de sulfato de aluminio y potasio que corresponda a 352 mg de $\text{Al}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ en agua. Agregar 10 ml de ácido sulfúrico diluido, diluir a 100 ml con agua y mezclar.

Solución de aluminio (100 ppm) (SL) - Disolver 8,947 g de cloruro de aluminio en agua y diluir a 1.000 ml con el mismo solvente. Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua.

Solución de aluminio (10 ppm) (SL) - Disolver una cantidad de nitrato de aluminio, correspondiente a 1,39 g de $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ en agua. Diluir a 100 ml con agua, transferir 1 ml de la solución obtenida a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua. Preparar esta solución inmediatamente antes de su empleo.

Solución de aluminio (2 ppm) (SL) - Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de solución de aluminio (200 ppm) (SL) a un matraz afo-

rado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución de amonio (2,5 ppm) (SL) - Disolver una cantidad de cloruro de amonio equivalente a 741 mg de NH_4Cl en agua y diluir a 1 litro con el mismo solvente. Diluir 1 ml de la solución obtenida a 100 ml con agua, inmediatamente antes de su uso.

Solución de amonio (1 ppm) (SL) - Inmediatamente antes de su uso, transferir 2 ml de solución de amonio (2,5 ppm) (SL) y completar a 5 ml con agua.

Solución de calcio (100 ppm) (SL) - Disolver una cantidad de carbonato de calcio equivalente a 624 mg de CaCO_3 en 3 ml de ácido acético y diluir a 250,0 ml con agua. Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua.

Solución de calcio (100 ppm) (SL1) - Disolver una cantidad de carbonato de calcio equivalente a 2,5 g de CaCO_3 en 12 ml de ácido acético y diluir a 1.000,0 ml con agua. Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con alcohol.

Solución de calcio (10 ppm) (SL) - Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de solución de calcio (100 ppm) (SL) a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución de cloruro (50 ppm) (SL) - Disolver una cantidad de cloruro de sodio equivalente a 824 mg de NaCl en agua y diluir a 1000,0 ml con el mismo solvente. Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua.

Solución de cloruro (8 ppm) (SL) - Disolver una cantidad de cloruro de sodio equivalente a 1,32 g de NaCl en agua y diluir a 1.000,0 ml con el mismo solvente. Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua.

Solución de cloruro (5 ppm) (SL) - Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de solución de cloruro (50 ppm) (SL) a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua.

Solución de fosfato (5 ppm) (SL) - Disolver una cantidad de fosfato dihidrogenado equivalente a 716 mg de KH_2PO_4 y diluir a 1.000 ml con el mismo solvente. Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua.

Solución de hierro (250 ppm) (SL) - Disolver 4,840 g de cloruro férrico en 100 ml de ácido clorhídrico diluido. Inmediatamente antes de su empleo, realizar una dilución 1 en 40 con agua.

Solución de hierro (20 ppm) (SL) - Disolver 863,4 mg de sulfato férrico de amonio en agua, agregar 25 ml de ácido sulfúrico 2 N, diluir con agua a 500,0 ml y mezclar. Inmediatamente antes de su empleo, transferir 10 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución de hierro (1 ppm) (SL) - Transferir 1 ml de la solución de hierro (20 ppm) (SL) a un matraz aforado de 20 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

Solución de magnesio (100 ppm) (SL) - Disolver una cantidad de sulfato de magnesio equivalente a 1,010 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en agua y diluir a 100 ml con el mismo solvente. Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua.

Solución de magnesio (10 ppm) (SL) - Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de solución de magnesio (100 ppm) (SL) a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua.

Solución de magnesio (10 ppm) (SL1) - Disolver 8,365 g de cloruro de magnesio en 1000 ml de ácido clorhídrico diluido. Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua.

Solución de mercurio (20 ppm) (SL) - Disolver una cantidad de cloruro de mercurio equivalente a 135,4 mg de HgCl_2 en una mezcla de ácido sulfúrico diluido y agua (1:1) y diluir con la misma mezcla a 100 ml. Transferir 2 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con la misma mezcla de solventes.

Solución de níquel (10 ppm) (SL) - Disolver una cantidad de sulfato de níquel que corresponda a 4,78 g de $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en agua y diluir a 1.000 ml con el mismo solvente. Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con agua.

Solución de plomo (100 ppm) (SL) - Disolver una cantidad de nitrato de plomo que corresponda a 400 mg de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ en agua y diluir a 250,0 ml con el mismo solvente. Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua.

Solución de plomo (10 ppm) (SL) - Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de solución de plomo (100 ppm) (SL) a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua.

Solución de plomo (1 ppm) (SL) - Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de solución de plomo (10 ppm) (SL) a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua.

Solución de plomo (0,1 ppm) (SL) - Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de solución de plomo (1 ppm) (SL) a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua.

Solución de sulfato (100 ppm) (SL) - Disolver una cantidad de sulfato de potasio que corresponda a 181 mg de K_2SO_4 en agua y diluir a 100,0 ml con el mismo solvente. Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua.

Solución de sulfato (10 ppm) (SL) - Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de solución de sulfato (100 ppm) (SL) a un matraz aforado de 10 ml y completar a volumen con agua.

Solución de sulfato (10 ppm) (SL1) - Disolver una cantidad de sulfato de potasio que corresponda a 0,181 g de K_2SO_4 en alcohol al 30 % v/v y diluir a 100,0 ml con el mismo solvente. Inmediatamente antes de su empleo, transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con alcohol al 30 % v/v.

Solución de talio (10 ppm) (SL) - Disolver en una solución de cloruro de sodio de 9 g por litro una cantidad de sulfato de talio equivalente a 123,5 mg de Tl_2SO_4 y completar a 1 litro con el mismo solvente. Transferir 10 ml de la solución anterior a un matraz aforado de 100 ml y completar a volumen con el mismo solvente.

TABLAS

Alcohol

Disminución de grados por diluciones en volúmenes (volumen de agua agregado a un alcohol de título dado para reducirlo a otro de título inferior)

	100°	99°	98°	97°	96°	95°	94°	93°	92°
95	6,50	5,15	3,83	2,53	1,25				
90	13,25	11,83	10,43	9,07	7,23	6,41	5,10	3,80	2,54
85	20,54	19,05	17,58	16,15	14,73	13,33	11,96	10,59	9,24
80	28,59	27,01	25,47	23,95	22,45	20,95	19,49	18,04	16,61
75	37,58	35,90	34,28	32,67	31,08	29,52	27,97	26,43	24,94
70	47,75	45,98	44,25	42,54	40,85	39,18	37,53	35,89	34,27
65	59,37	57,49	55,63	53,81	52,00	50,22	48,45	46,70	44,96
60	72,82	70,80	68,80	66,85	64,92	63,00	61,10	59,21	57,33
55	88,60	86,42	84,28	82,16	80,06	77,99	75,93	73,88	71,85
50	107,44	105,08	102,75	100,44	98,15	95,89	93,64	91,41	89,19
45	130,26	127,67	125,11	122,57	120,06	117,57	115,09	112,64	110,18
40	158,56	155,68	152,84	150,02	147,22	144,46	141,70	138,95	136,23
35	194,63	191,39	188,19	185,01	181,85	178,71	175,60	172,49	169,39
30	242,38	238,67	234,99	231,33	227,70	224,08	220,49	216,90	213,33
25	308,90	304,52	300,18	295,86	291,56	287,28	283,02	278,77	274,53
20	408,50	403,13	397,79	392,47	387,17	381,90	376,64	371,40	366,16
15	574,75	567,43	560,53	553,55	548,59	539,66	532,74	525,83	518,94
10	907,09	896,73	886,40	876,10	865,15	855,55	845,31	835,08	824,86
	90°	85°	80°	75°	70°	65°	60°	55°	50°
85	6,56								
80	13,79	6,83							
75	21,89	14,48	7,20						
70	31,10	23,14	15,35	7,64					
65	41,53	33,03	24,66	16,37	8,15				
60	53,65	44,48	35,43	26,47	17,58	8,76			
55	67,87	57,90	48,07	38,32	28,63	19,02	9,47		
50	84,71	73,90	63,04	52,43	41,73	31,25	20,47	10,35	
45	105,34	93,30	81,38	69,54	57,78	46,09	34,46	22,90	11,45
40	130,80	117,34	104,01	90,76	77,58	64,48	51,43	38,46	25,55
35	163,28	148,01	132,88	117,82	102,84	87,93	70,08	58,31	43,59
30	206,22	188,57	171,05	153,53	136,34	118,94	101,71	84,57	67,45
25	266,12	245,15	224,30	203,61	182,83	162,21	141,65	121,16	100,73
20	355,80	329,84	304,01	278,26	252,58	226,98	201,43	175,96	150,55
15	505,27	471,00	436,85	402,81	368,83	334,91	301,07	267,29	233,64
10	804,50	753,65	702,89	652,51	601,60	551,06	500,50	450,19	399,85

Ejemplo - Para reducir un alcohol de 80° por 100 (en volumen) al título de 40° por 100 se busca en la columna vertical correspondiente a 80° por 100 el número correspondiente a la línea horizontal 40, lo que da 104,01. Luego a 100 volúmenes de alcohol de 80° por 100 hay que agregar 104,01 volúmenes de agua para obtener alcohol de 40° por 100.

Tabla de viscosidad intrínseca

Viscosidad intrínseca $[\eta]_c$ a diferentes valores de viscosidad relativa $[\eta]_{rel}$

$[\eta]_{rel}$	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
1,1	0,098	0,106	0,115	0,125	0,134	0,143	0,153	0,161	0,170	0,180
1,2	0,189	0,198	0,207	0,216	0,225	0,233	0,242	0,250	0,259	0,268
1,3	0,276	0,285	0,293	0,302	0,310	0,318	0,326	0,334	0,342	0,350
1,4	0,358	0,367	0,375	0,383	0,391	0,399	0,407	0,414	0,422	0,430
1,5	0,437	0,445	0,453	0,460	0,468	0,476	0,484	0,491	0,499	0,507
1,6	0,515	0,522	0,529	0,536	0,544	0,551	0,558	0,566	0,573	0,580
1,7	0,587	0,595	0,602	0,608	0,615	0,622	0,629	0,636	0,642	0,649
1,8	0,656	0,663	0,670	0,677	0,683	0,690	0,697	0,704	0,710	0,717
1,9	0,723	0,730	0,736	0,743	0,749	0,756	0,762	0,769	0,775	0,782
2,0	0,788	0,795	0,802	0,809	0,815	0,821	0,827	0,833	0,840	0,846
2,1	0,852	0,858	0,864	0,870	0,876	0,882	0,888	0,894	0,900	0,906
2,2	0,912	0,918	0,924	0,929	0,935	0,941	0,948	0,953	0,959	0,965
2,3	0,971	0,976	0,983	0,988	0,994	1,000	1,006	10,11	1,017	1,022
2,4	1,028	1,033	1,039	1,044	1,050	1,056	1,061	1,067	1,072	1,078
2,5	1,083	1,089	1,094	1,100	1,105	1,111	1,116	1,121	1,126	1,131
2,6	1,137	1,142	1,147	1,153	1,158	1,163	1,169	1,174	1,179	1,184
2,7	1,190	1,195	1,200	1,205	1,210	1,215	1,220	1,225	1,230	1,235
2,8	1,240	1,245	1,250	1,255	1,260	1,265	1,270	1,275	1,280	1,285
2,9	1,290	1,295	1,300	1,305	1,310	1,314	1,319	1,324	1,329	1,333
3,0	1,338	1,343	1,348	1,352	1,357	1,362	1,367	1,371	1,376	1,381
3,1	1,386	1,390	1,395	1,400	1,405	1,409	1,414	1,418	1,423	1,427
3,2	1,432	1,436	1,441	1,446	1,550	1,455	1,459	1,464	1,468	1,473
3,3	1,477	1,482	1,486	1,491	1,496	1,500	1,504	1,508	1,513	1,517
3,4	1,521	1,525	1,529	1,533	1,537	1,542	1,546	1,550	1,554	1,558
3,5	1,562	1,566	1,570	1,575	1,579	1,583	1,587	1,591	1,595	1,600
3,6	1,604	1,608	1,612	1,617	1,621	1,625	1,629	1,633	1,637	1,642
3,7	1,646	1,650	1,654	1,658	1,662	1,666	1,671	1,675	1,679	1,683
3,8	1,687	1,691	1,695	1,700	1,704	1,708	1,712	1,715	1,719	1,723
3,9	1,727	1,731	1,735	1,739	1,742	1,746	1,750	1,754	1,758	1,762
4,0	1,765	1,769	1,773	1,777	1,781	1,785	1,789	1,792	1,796	1,800
4,1	1,804	1,808	1,811	1,815	1,819	1,822	1,826	1,830	1,833	1,837
4,2	1,841	1,845	1,848	1,852	1,856	1,859	1,863	1,867	1,870	1,874
4,3	1,878	1,882	1,885	1,889	1,893	1,896	1,900	1,904	1,907	1,911
4,4	1,914	1,918	1,921	1,925	1,929	1,932	1,936	1,939	1,943	1,946
4,5	1,950	1,954	1,957	1,961	1,964	1,968	1,971	1,975	1,979	1,982
4,6	1,986	1,989	1,993	1,996	2,000	2,003	2,007	2,010	2,013	2,017
4,7	2,020	2,023	2,027	2,030	2,033	2,037	2,040	2,043	2,047	2,050
4,8	2,053	2,057	2,060	2,063	2,067	2,070	2,073	2,077	2,080	2,083
4,9	2,087	2,090	2,093	2,097	2,100	2,103	2,107	2,110	2,113	2,116
5,0	2,119	2,122	2,125	2,129	2,132	2,135	2,139	2,142	2,145	2,148
5,1	2,151	2,154	2,158	2,160	2,164	2,167	2,170	2,173	2,176	2,180
5,2	2,183	2,186	2,190	2,192	2,195	2,197	2,200	2,203	2,206	2,209
5,3	2,212	2,215	2,218	2,221	2,224	2,227	2,230	2,233	2,236	2,240
5,4	2,243	2,246	2,249	2,252	2,255	2,258	2,261	2,264	2,267	2,270
5,5	2,273	2,276	2,279	2,282	2,285	2,288	2,291	2,294	2,297	2,300
5,6	2,303	2,306	2,309	2,312	2,315	2,318	2,320	2,324	2,326	2,329
5,7	2,332	2,335	2,338	2,341	2,344	2,347	2,350	2,353	2,355	2,358
5,8	2,361	2,364	2,367	2,370	2,373	2,376	2,379	2,382	2,384	2,387
5,9	2,390	2,393	2,396	2,400	2,403	2,405	2,408	2,411	2,414	2,417
6,0	2,419	2,422	2,425	2,428	2,431	2,433	2,436	2,439	2,442	2,444
6,1	2,447	2,450	2,453	2,456	2,458	2,461	2,464	2,467	2,470	2,472
6,2	2,475	2,478	2,481	2,483	2,486	2,489	2,492	2,494	2,497	2,500
6,3	2,503	2,505	2,508	2,511	2,513	2,516	2,518	2,521	2,524	2,526
6,4	2,529	2,532	2,534	2,537	2,540	2,542	2,545	2,547	2,550	2,553
6,5	2,555	2,558	2,561	2,563	2,566	2,568	2,571	2,574	2,576	2,579
6,6	2,581	2,584	2,587	2,590	2,592	2,595	2,597	2,600	2,603	2,605

6,7	2,608	2,610	2,613	2,615	2,618	2,620	2,623	2,625	2,627	2,630
6,8	2,633	2,635	2,637	2,640	2,643	2,645	2,648	2,650	2,653	2,655
6,9	2,658	2,660	2,663	2,665	2,668	2,670	2,673	2,675	2,678	2,680
7,0	2,683	2,685	2,687	2,690	2,693	2,695	2,698	2,700	2,702	2,705
7,1	2,707	2,710	2,712	2,714	2,717	2,719	2,721	2,724	2,726	2,729
7,2	2,731	2,733	2,736	2,738	2,740	2,743	2,745	2,748	2,750	2,752
7,3	2,755	2,757	2,760	2,762	2,764	2,767	2,769	2,771	2,774	2,776
7,4	2,779	2,781	2,783	2,786	2,788	2,790	2,793	2,795	2,798	2,800
7,5	2,802	2,805	2,807	2,809	2,812	2,814	2,816	2,819	2,821	2,823
7,6	2,826	2,828	2,830	2,833	2,835	2,837	2,840	2,842	2,844	2,847
7,7	2,849	2,851	2,854	2,856	2,858	2,860	2,863	2,865	2,868	2,870
7,8	2,873	2,875	2,877	2,879	2,881	2,884	2,887	2,889	2,891	2,893
7,9	2,895	2,898	2,900	2,902	2,905	2,907	2,909	2,911	2,913	2,915
8,0	2,918	2,920	2,922	2,924	2,926	2,928	2,931	2,933	2,935	2,937
8,1	2,939	2,942	2,944	2,946	2,948	2,950	2,952	2,955	2,957	2,959
8,2	2,961	2,963	2,966	2,968	2,970	2,972	2,974	2,976	2,979	2,981
8,3	2,983	2,985	2,987	2,990	2,992	2,994	2,996	2,998	3,000	3,002
8,4	3,004	3,006	3,008	3,010	3,012	3,015	3,017	3,019	3,021	3,023
8,5	3,025	3,027	3,029	3,031	3,033	3,035	3,037	3,040	3,042	3,044
8,6	3,046	3,048	3,050	3,052	3,054	3,056	3,048	3,060	3,062	3,064
8,7	3,067	3,069	3,071	3,073	3,075	3,077	3,079	3,081	3,083	3,085
8,8	3,087	3,089	3,092	3,094	3,096	3,098	3,100	3,102	3,104	3,106
8,9	3,108	3,110	3,112	3,114	3,116	3,118	3,120	3,122	3,124	3,126
9,0	3,128	3,130	3,132	3,134	3,136	3,138	3,140	3,142	3,144	3,146
9,1	3,148	3,150	3,152	3,154	3,156	3,158	3,160	3,162	3,164	3,166
9,2	3,168	3,170	3,172	3,174	3,176	3,178	3,180	3,182	3,184	3,186
9,3	3,188	3,190	3,192	3,194	3,196	3,198	3,200	3,202	3,204	3,206
9,4	3,208	3,210	3,212	3,214	3,215	3,217	3,219	3,221	3,223	3,225
9,5	3,227	3,229	3,231	3,233	3,235	3,237	3,239	3,241	3,242	3,244
9,6	3,246	3,248	3,250	3,252	3,254	3,256	3,258	3,260	3,262	3,264
9,7	3,266	3,268	3,269	3,271	3,273	3,275	3,277	3,279	3,281	3,283
9,8	3,285	3,287	3,289	3,291	3,293	3,295	3,297	3,298	3,300	3,02
9,9	3,304	3,305	3,307	3,309	3,311	3,313	3,316	3,318	3,320	3,321
10	3,32	3,34	3,36	3,37	3,39	3,41	3,43	3,45	3,46	3,48
11	3,50	3,52	3,53	3,55	3,56	3,58	3,60	3,61	3,63	3,64
12	3,66	3,68	3,69	3,71	3,72	3,74	3,76	3,77	3,79	3,80
13	3,80	3,83	3,85	3,86	3,88	3,89	3,90	3,92	3,93	3,95
14	3,96	3,97	3,99	4,00	4,02	4,03	4,04	4,06	4,07	4,09
15	4,10	4,11	4,13	4,14	4,15	4,17	4,18	4,19	4,20	4,22
16	4,23	4,24	4,25	4,27	4,28	4,29	4,30	4,31	4,33	4,34
17	4,35	4,36	4,37	4,38	4,39	4,41	4,42	4,43	4,44	4,45
18	4,46	4,47	4,48	4,49	4,50	4,52	4,53	4,54	4,55	4,56
19	4,57	4,58	4,59	4,60	4,61	4,62	4,63	4,64	4,65	4,66