	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN USO Y LIMPIEZA DEL EQUIPO HPLC HITACHI PRIMAIDE. ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD	Código: PEO-AC-110-05
		Versión: 05
		Vigencia: 30/11/2022 Vencimiento: 30/11/2024
		Página 1 de 12

1. PROPÓSITO

Brindar instrucciones precisas para la correcta operación del instrumento HPLC Hitachi Primaide.

2. ALCANCE

Equipo HPLC Hitachi Primaide ubicado en el laboratorio de análisis fisicoquímico del departamento de Aseguramiento de Calidad.

3. DOCUMENTOS RELACIONADOS

CÓDIGO	NOMBRE DEL DOCUMENTO
No aplica.	

4. DEFINICIONES

Cromatografía: Es un método físico para separación de componentes de una mezcla, permitiendo identificar y cuantificar cada uno de sus componentes.

Tiempo de retención: Tiempo característico en que tarda un analito específico en pasar a través del sistema.

Analito: Sustancia de interés que se va a identificar y/o cuantificar durante el análisis.

Fase móvil: Líquido que se mueve en una dirección definida, generando una serie de interacciones con la fase estacionaria las cuales dan lugar a la separación de los analitos presentes en una muestra.

Fase estacionaria: Sustancia que está fija dentro de la columna cromatográfica.

Cromatograma: Resultado gráfico de la cromatografía. Se refiere a la señal obtenida de un análisis cromatográfico.

5. RESPONSABILIDAD Y AUTORIDAD

RESPONSABILIDAD


Los Analistas Fisicoquímicos: Son los responsables de la correcta aplicación del presente procedimiento.

El Jefe de Control de Calidad: Es el responsable de velar por el cumplimiento del presente procedimiento.

AUTORIDAD

El Gerente de Aseguramiento de Calidad: Tiene la autoridad de efectuar los cambios que considere necesarios en el presente documento.

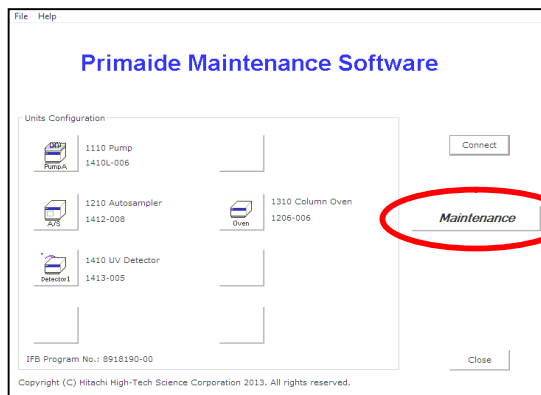
Elaborado por: Asistente de Documentación AC	Firma	Fecha: 30/11/2022
Revisado por: Jefe de Control de Calidad	Firma	Fecha: 30/11/2022
Aprobado por: Gerente de Aseguramiento de la Calidad	Firma	Fecha: 30/11/2022

Laboratorios Bonin 	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN USO Y LIMPIEZA DEL EQUIPO HPLC HITACHI PRIMAIDE. ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD	Código: PEO-AC-110-05
		Versión: 05
		Vigencia: 30/11/2022 Vencimiento: 30/11/2024
		Página 2 de 12


6. CONTENIDO

6.1. Preparación del equipo

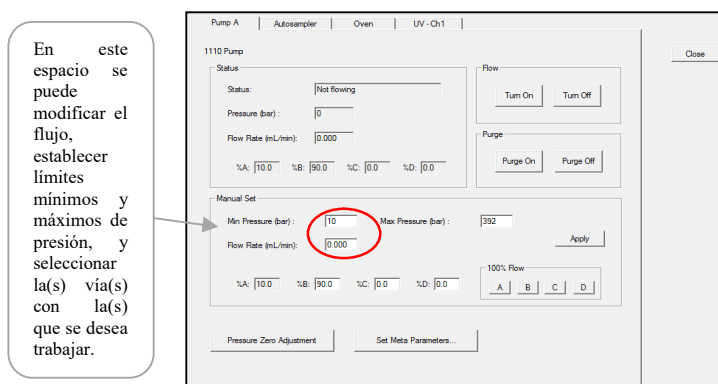
- 6.1.1. Todo el personal que utilice el equipo deberá de anotarse en el **FO-AC-092 Control de uso de equipo HPLC Hitachi Primaide**, al iniciar a trabajar con el equipo.
- 6.1.2. Antes de iniciar el funcionamiento del equipo, revise que el equipo cuente con soluciones cromatográficas suficientes para funcionar y con un depósito de desechos disponible.
- 6.1.3. Se debe cambiar el agua diariamente dejando constancia en el **FO-AC-137 Control de cambios de agua para equipo HPLC**.
- 6.1.4. Una vez encendido el ordenador, proceda a encender el equipo Hitachi Primaide de la siguiente manera:
- 6.1.5. Primero encienda el **Estabilizador de energía**, luego en el orden siguiente encender: Detector > Horno > Auto-muestreador > Bomba.
- 6.1.6. En la pantalla de inicio seleccionar “Maintenance” y dar doble click. Se abrirá una ventana, de click en la opción: “Conect”. Esta operación permite al equipo reconocer los módulos que conforman el equipo.
- 6.1.7. Una vez que el ordenador ha reconocido al equipo, de click en la opción ahora habilitada: “Maintenance”.



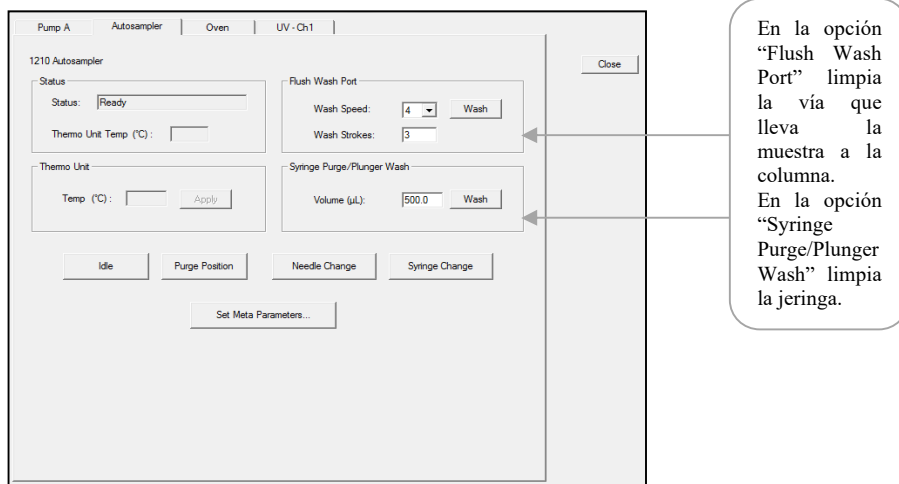
- 6.1.8. Nuevamente se abrirá una ventana en la que se distinguen 4 pestañas: Pump, Autosampler, Oven y UV-Ch1.

Laboratorios Bonin 	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN USO Y LIMPIEZA DEL EQUIPO HPLC HITACHI PRIMAIDE. ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD	Código: PEO-AC-110-05
		Versión: 05
		Vigencia: 30/11/2022 Vencimiento: 30/11/2024
		Página 3 de 12

6.1.9. En la pestaña de la bomba (Pump), seleccione la opción ‘Purge On’ y abra la llave que se encuentra en el módulo de la bomba. Esta llave se abre en sentido contrario a las agujas del reloj. Purgue todas las vías, cuando termine la purga, cierre la llave y de click en la opción “Purge Off”. El lavado se debe realizar al menos 3 minutos por cada solvente y si las fases móviles tienen varios días de preparación deben filtrarse previo a su uso.



6.1.10. En la pestaña del automuestreador (*Autosampler*) encontramos las opciones requeridas para el lavado del automuestreador.





6.1.11. Luego de terminado el lavado, dar click en la opción “Close” para cerrar la ventana de mantenimiento.

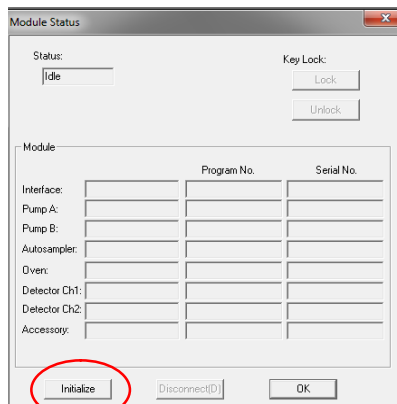
6.2. Procedimiento de operación


6.2.1. Previo a iniciar el funcionamiento del equipo, revise que la columna y la fase móvil sean las indicadas por la metodología de análisis.

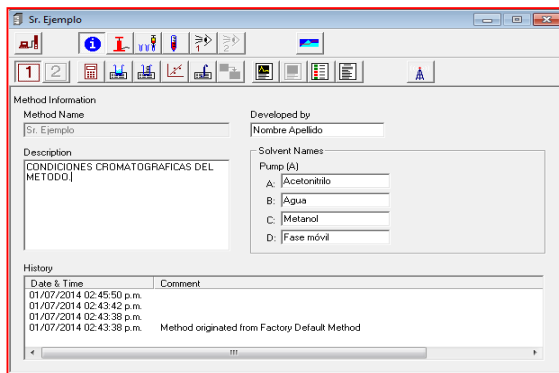
6.2.2. En la pantalla de inicio, seleccione la opción Primaide y dele doble click. De esta manera abrirá el programa.

Laboratorios Bonin 	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN USO Y LIMPIEZA DEL EQUIPO HPLC HITACHI PRIMAIDE. ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD	Código: PEO-AC-110-05 Versión: 05 Vigencia: 30/11/2022 Vencimiento: 30/11/2024 Página 4 de 12
--	---	---

- 6.2.3. A la izquierda encontrará la opción ‘Initialize’, caracterizada por el ícono  Se abrirá la ventana “Module Status”. Dar click en la opción “Initialize” y esperar a que el software reconozca los módulos del cromatógrafo, y una vez los haya reconocido, dar click en la opción “OK”. **NOTA: Si los módulos no se encuentran encendidos el programa no podrá iniciar.**

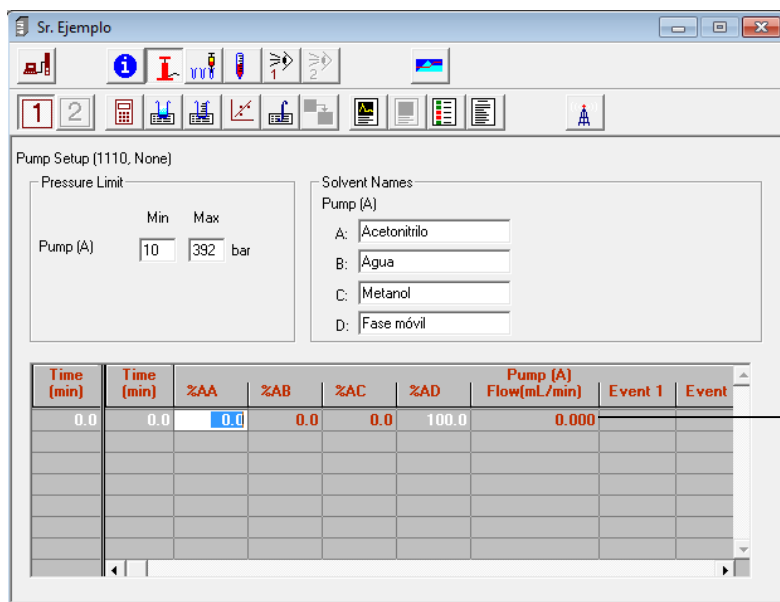


- 6.2.4. Una vez inicializado ya puede abrir la metodología descrita por el método analítico, dando click en la opción “Method Setup” identificada con el ícono  Al dar click en esta opción accederá a un menú emergente donde deberá seleccionar el método a utilizar. **NOTA: Si no existe la metodología a utilizar, seleccione un método existente y modifíquelo según las condiciones cromatográficas que especifica la metodología analítica, elegir guardar como y asignarle nombre al nuevo método.**
- 6.2.5. Al seleccionar el método que se va a utilizar, verifique que las condiciones cromatográficas coinciden con las condiciones que especifica la metodología analítica. En la siguiente imagen se presenta la pantalla principal del menú “Method Setup”. Aquí encontrará la descripción general del método, quién lo creó y qué solventes utiliza el equipo en cada una de las vías (A-D).



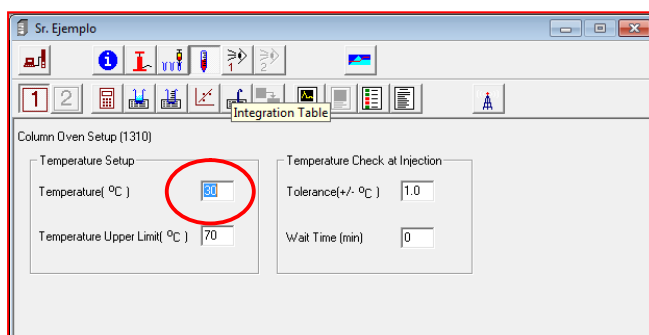
En la parte superior de la pantalla del método, se encuentran las diferentes pestañas con las que puede personalizar las condiciones cromatográficas de cada módulo.


- 6.2.6. La siguiente imagen corresponde al menú de método para la bomba del equipo. En esta sección se pueden realizar cambios en el porcentaje de solventes que el equipo bombea al detector, así como el flujo en mililitros por minuto que estará bombeando.

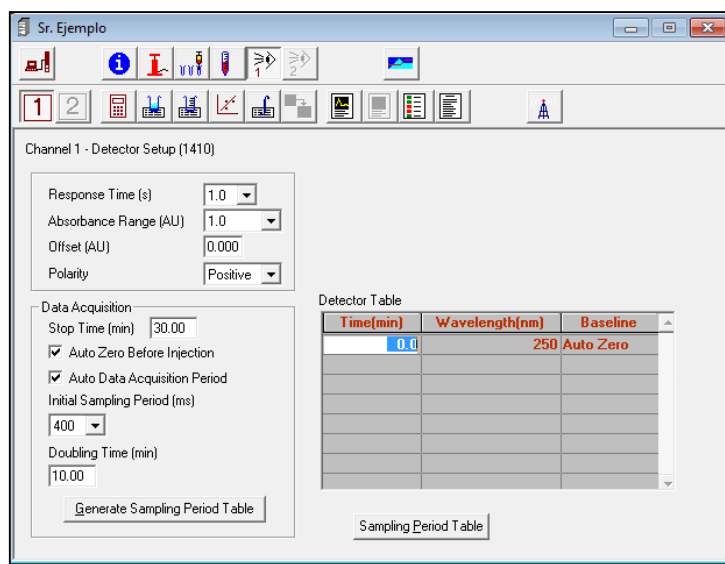


En esta fila se pueden ingresar las mezclas de solventes. Y el flujo en que se va a trabajar (*Flow*)

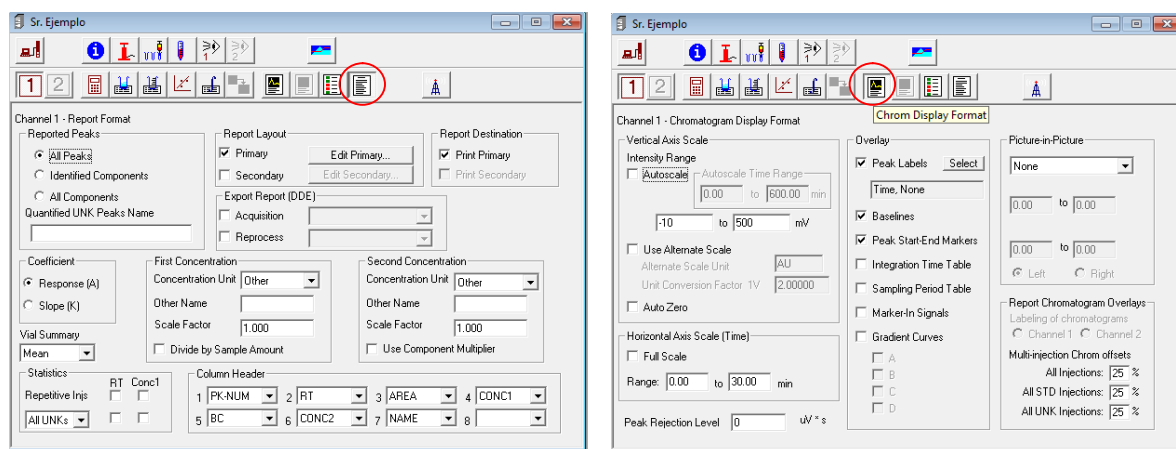
- 6.2.7. En la siguiente pestaña (AS) se ingresan las condiciones de trabajo del automuestreador.
- 6.2.8. En la pestaña siguiente, encontramos la opción “Oven” en la que podemos se puede fijar la temperatura a la que se va a trabajar. **NOTA: En esta pestaña se puede determinar el límite máximo de temperatura en que el equipo va a trabajar. Este límite debe de estar por debajo de las condiciones máximas toleradas por la columna a utilizar.**




- 6.2.9. La siguiente opción es el detector. Este módulo identificado por el ícono  nos permite establecer la(s) longitud(es) de onda en la que se realizará el análisis.



6.2.10. Para la edición del reporte se encuentran las siguientes opciones:



En estas opciones se puede personalizar el reporte. En la opción del lado izquierdo se accede para modificar la información que incluirá el reporte, seleccionando ítems del lado izquierdo y arrastrándolos a la posición en la que deseamos que aparezca la información en el reporte. En la opción de la derecha se pueden editar los cromatogramas que aparecerán en el reporte, determinando los rangos de intensidad y la escala en el tiempo.

6.2.11. Nuevamente en el menú principal, ubicamos el ícono  Ingresamos a esta opción y aparecerá la pantalla siguiente:



PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN

USO Y LIMPIEZA DEL EQUIPO HPLC HITACHI PRIMAIDE. ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD

Código:
PEO-AC-110-05

Versión: **05**

Vigencia: 30/11/2022

Vencimiento: 30/11/2024


Página 7 de 12

Esta es la pantalla de secuencia. Aquí se ingresa la información referente a las muestras que se van a analizar: El número de vial en que está localizada la muestra, el volumen de inyección, número de inyecciones por vial, tipo de muestra, nombre de la muestra y muy importante, el método con el que se va a analizar. **NOTA: Cuando se agrega el método de lavado en una secuencia, el volumen de inyección debe ser igual a 0. Caso contrario la secuencia se detendrá sin que se realice el lavado de columna**

En la segunda opción de la pantalla de secuencia, se ingresa el nombre de la secuencia y el método con el que se va a trabajar. **NOTA: Si no coincide el método en las dos pantallas, el equipo no reconocerá el método en el menú “Acquire data”.**

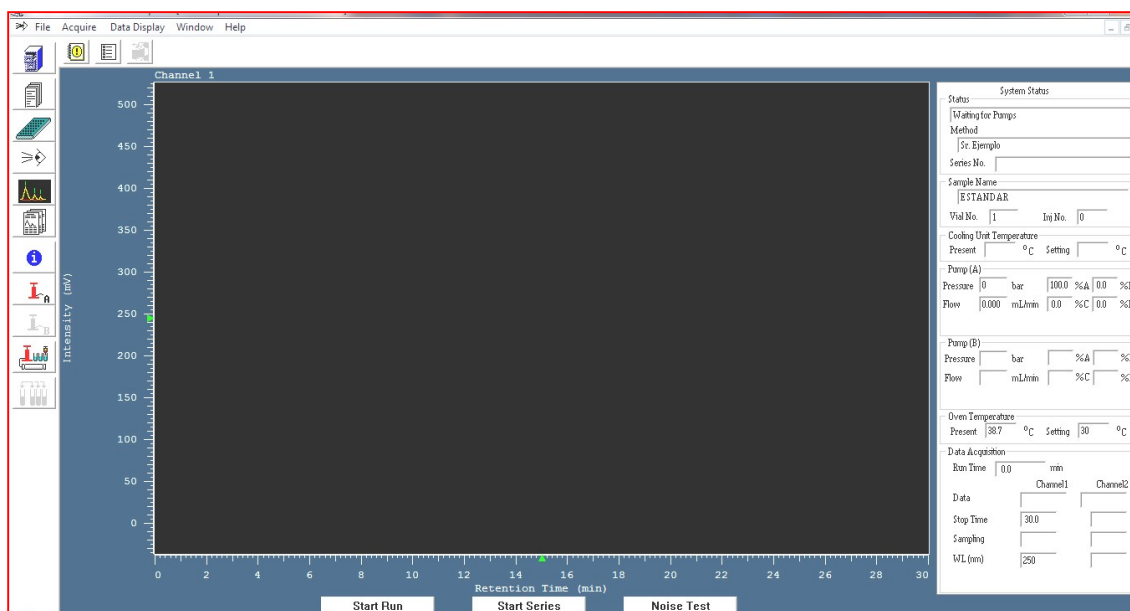
Cuando se termina de ingresar la secuencia, esta se guarda accediendo al menú de archivo “File” dando click en la opción de “Save as”, cuando se crea por primera vez.



Laboratorios Bonin 	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN USO Y LIMPIEZA DEL EQUIPO HPLC HITACHI PRIMAIDE. ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD	Código: PEO-AC-110-05 Versión: 05 Vigencia: 30/11/2022 Vencimiento: 30/11/2024 Página 8 de 12
--	---	---


6.2.12. Una vez guardada la secuencia, en el menú principal dar click en el ícono “*Acquire Data*”.

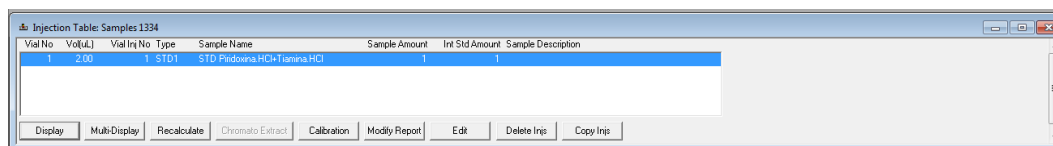
Esto abrirá la ventana de operación. En esta pantalla al lado derecho están desplegadas las condiciones cromatográficas actuales del método. Verificar que estas sean las especificadas en el menú “Method setup”.




Para poder empezar el análisis, primero hay que cerciorarse de que la línea base sea estable. Para esto damos click en la opción “Noise Test” la cual desempeñará una prueba que dura 1 minuto. Si los valores de Ruido (Noise) y de deriva (drift) son menores a 50 y a 100, respectivamente, podemos iniciar el análisis.

Para iniciar la secuencia damos click en “Start Series” para realizar pruebas de un vial “Start Run”.


6.2.13. Para desplegar los cromatogramas ya analizados, en el menú principal dar click en el ícono . Se desplegará un menú en el que aparece la información de los análisis anteriores. Seleccionar el análisis que se desea observar y luego en la siguiente ventana seleccionar Display.




Vial No	Vol(μL)	Vial Inj No	Type	Sample Name	Sample Amount	Int Std Amount	Sample Description
1	2.00	1	STD1	STD Pridowna.HCl+Tiamina.HCl			

Laboratorios Bonin 	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN USO Y LIMPIEZA DEL EQUIPO HPLC HITACHI PRIMAIDE. ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD	Código: PEO-AC-110-05
		Versión: 05
		Vigencia: 30/11/2022 Vencimiento: 30/11/2024
		Página 9 de 12


Opciones para los cromatogramas analizados.



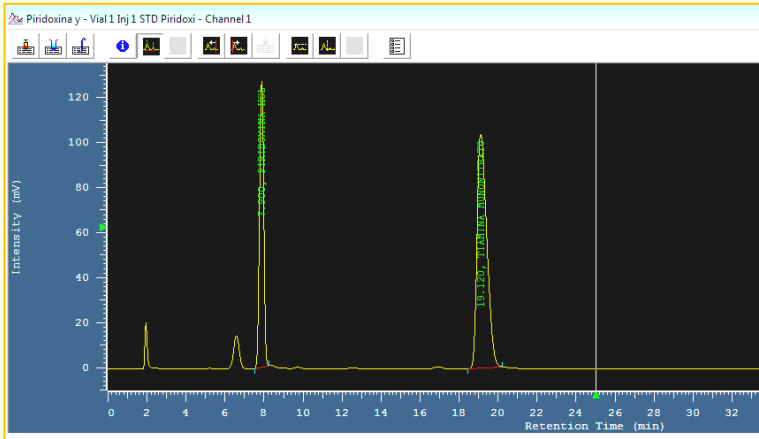
Opciones para definir la integración.



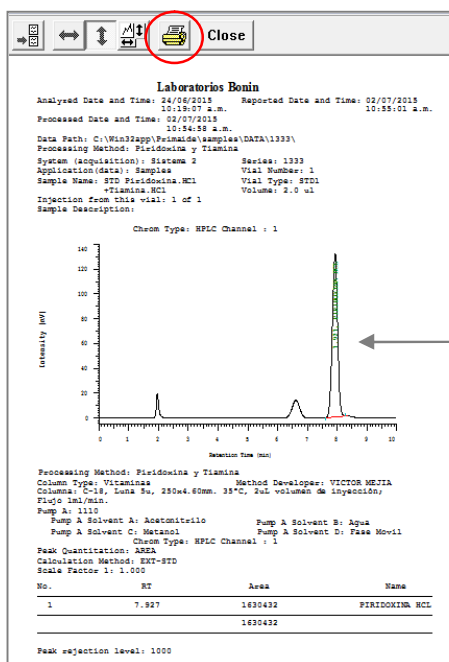
En esta opción se especifican los tiempos de retención y el periodo de ventana.




Información acerca de la serie, opciones para reporte, edición de la información.



NOTA: Para la impresión de los reportes, dar click en la opción “Recalculate” y luego en la opción “Modify Report”. En el menú que se despliega, dar click en la opción “Print Report”, para imprimir el reporte.



Al dar click derecho sobre el cromatograma del reporte, se puede acceder a la opción “Modify report”. Esto nos lleva a al menú “Method setup”. Ahí se pueden editar los ejes del cromatograma.

Laboratorios Bonin 	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN USO Y LIMPIEZA DEL EQUIPO HPLC HITACHI PRIMAIDE. ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD	Código: PEO-AC-110-05
		Versión: 05
		Vigencia: 30/11/2022 Vencimiento: 30/11/2024
		Página 10 de 12

6.3. Limpieza general del Equipo:

- 6.3.1. Pasar un paño de papel mayordomo sobre la superficie externa del equipo HPLC Hitachi Primaide, para remover el polvo acumulado. Con cuidado, limpiar cada uno de los módulos, utilizando papel mayordomo. La filtración del solvente debe realizarse una vez por semana y cuando se termine el solvente y se coloque uno nuevo.
- 6.3.2. Para realizar la limpieza interna del equipo, retirar la columna y colocar un 'Punto muerto'. Encender el equipo, acceder a mantenimiento (*Maintenance*), establecer un flujo de 2 ml/min en la vía de Agua y encender la bomba. El equipo iniciará a bombear agua en el sistema. Chequear si hay fugas en el sistema, mantener el flujo durante 5 minutos, luego cambiar el agua por metanol u Acetonitrilo durante 3 minutos y detener la bomba.
- 6.3.3. Anotarse en el **FO-AC-020 Control de limpieza de equipo** que corresponde al equipo HPLC Hitachi Primaide para dejar constancia de la limpieza.
- 6.3.4. Frecuencia de limpieza: una vez por semana

6.4. Precauciones para el uso de HPLC:

- 6.4.1 A fin de evitar la contaminación, no recicle el disolvente de lavado de sellos
- 6.4.2 Cambie semanalmente el disolvente de lavado de sellos
- 6.4.3 Se recomienda encarecidamente la utilización de Kit de cabeza de botella para lavado de sellos.
- 6.4.4 Preste atención a que la muestra sea completamente soluble tanto en el disolvente de la muestra utilizada, como en la fase móvil, en las condiciones iniciales.
- 6.4.5 En la medida de lo posible, haga coincidir el disolvente de la muestra y la fase móvil propuesta para evitar la precipitación
- 6.4.6 Purgue todos los canales de disolventes con 2-propanol y deje que el desgasificador bombee durante dos horas más
- 6.4.7 Evite encendidos/apagados innecesarios de la lámpara.
- 6.4.8 Utilice una jeringuilla para llenar las líneas de disolvente vacías

7. REVISIÓN DE ESTE DOCUMENTO


El presente documento debe revisarse el 30/11/2024 o antes de su vencimiento si fuere necesario.

8. BIBLIOGRAFÍA

Manual de operación del equipo HPLC Hitachi Primaide.

9. ARCHIVO

El presente documento original será archivado en Gestión de Calidad bajo condiciones de seguridad adecuadas, además, se emiten dos copias controladas para el área de Aseguramiento de Calidad, siendo los responsables Asistente de Documentación y Analista Físicoquímico.

Laboratorios Bonin 	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN USO Y LIMPIEZA DEL EQUIPO HPLC HITACHI PRIMAIDE. ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD	Código: PEO-AC-110-05
		Versión: 05
		Vigencia: 30/11/2022 Vencimiento: 30/11/2024
		Página 11 de 12

10. ANEXOS


CODIGO	NOMBRE
No aplica.	

11. CONTROL DE REGISTROS

CODIGO Y NOMBRE DEL REGISTRO	RESPONSABLE DE SU ARCHIVO	MODO DE INDIZACION Y ARCHIVO	ACCESO AUTORIZADO	TIEMPO DE CONSERVACION
FO-AC-092 Control de uso de equipo HPLC Hitachi Primaide	Departamento de Aseguramiento de Calidad	En libro	Departamento Aseguramiento de calidad	5 años
FO-AC-137 Control de cambios de agua para equipo HPLC	Departamento de Aseguramiento de Calidad	En libro	Departamento Aseguramiento de calidad	5 años
FO-AC-020 Control de limpieza de Equipo	Departamento de Aseguramiento de Calidad	En folder	Departamento Aseguramiento de calidad	5 años

12. CAMBIOS EN EL DOCUMENTO

Versión	DESCRIPCIÓN DEL CAMBIO
1	Se modificó el numeral 5.1.9 En la pestaña de la bomba (Pump), seleccione la opción ‘Purge On’ y abra la llave que se encuentra en el módulo de la bomba. Esta llave se abre en sentido contrario a las agujas del reloj. Purgue todas las vías, cuando termine la purga, cierre la llave y de click en la opción ‘Purge Off’. El lavado se debe realizar al menos 30 minutos por cada solvente y si las fases móviles tienen varios días de preparación deben filtrarse previo a su uso.
2	Se modificó el tiempo de purga. El inciso 6.2.4 se agregó la forma correcta de guardar un nuevo método. 6.2.11 Se modificó: Cuando se termina de ingresar la secuencia, esta se guarda accediendo al menú de archivo ‘File’ dando click en la opción de ‘Save as’, cuando se crea por primera vez. Y el numeral 6.3.2 se corrige volumen muerto por punto muerto y el tiempo de 5 se corrige a 3 minutos. Y se agregó en 6.3.1: La filtración del solvente debe realizarse una vez por semana y cuando se termine el solvente y se coloque uno nuevo
3	Se agregó el inciso 6.4, precauciones para el uso de HPLC

Laboratorios Bonin 	PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN USO Y LIMPIEZA DEL EQUIPO HPLC HITACHI PRIMAIDE. ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD	Código: PEO-AC-110-05
		Versión: 05
		Vigencia: 30/11/2022 Vencimiento: 30/11/2024
		Página 12 de 12

Versión	DESCRIPCIÓN DEL CAMBIO
4	Modificación del numeral 6.4 Precauciones de uso; se eliminó los incisos del 6.3.7 al 6.3.12 ya que se repetían con los incisos del 6.3.1 al 6.3.3. Y se agregó el inciso 6.3.4 Frecuencia de limpieza.