

**VALIDACIÓN DE UN SISTEMA DE PURIFICACIÓN DE AGUA PARA LOS
PROCESOS DE PRODUCCION DE SUPLEMENTOS NUTRICIONALES EN
FORMA SOLIDA**



ANGÉLICA CHACÓN MARÍN

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
CARRERA DE MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL
BOGOTÁ D.C, 2009**

**VALIDACIÓN DE UN SISTEMA DE PURIFICACIÓN DE AGUA PARA LOS
PROCESOS DE PRODUCCION DE SUPLEMENTOS NUTRICIONALES EN
FORMA SOLIDA**

ANGÉLICA CHACÓN MARÍN

TRABAJO DE GRADO
Presentado como requisito parcial
Para optar por el título de

MICROBIÓLOGO INDUSTRIAL

PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL
BOGOTA D.C, 2009

**VALIDACIÓN DE UN SISTEMA DE PURIFICACIÓN DE AGUA PARA LOS
PROCESOS DE PRODUCCION DE SUPLEMENTOS NUTRICIONALES EN
FORMA SOLIDA**

ANGÉLICA CHACÓN MARÍN

Diego Congote

Director

ARNET PHARMACEUTICAL

Janeth Arias Palacios

Codirector

PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL
BOGOTÁ D.C, 2009**

**VALIDACIÓN DE UN SISTEMA DE PURIFICACIÓN DE AGUA PARA LOS
PROCESOS DE PRODUCCION DE SUPLEMENTOS NUTRICIONALES EN
FORMA SOLIDA**

ANGÉLICA CHACÓN MARÍN

Dra. Ingrid Schuler
Decana Académica

Dra. Janeth del Carmen Arias
Directora de Carrera

PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL
BOGOTÁ D.C, 2009

AGRADECIMIENTOS

A mi familia por el apoyo, comprensión y compañía incondicional en la consecución de este logro.

A Diego Congote, mi Director, por darme la oportunidad de vivir esta maravillosa experiencia, por su constante atención y oportunos aportes, críticas y sugerencias durante el desarrollo de esta investigación.

A todos los miembros del laboratorio de química y microbiología por su ayuda y labor de enseñanza.

Un especial agradecimiento a la familia Tabacinic por brindarme la oportunidad de desarrollar este proyecto en las instalaciones de su empresa.

Y finalmente a Catherin por su apoyo y amistad a lo largo de cinco años de arduo y gratificante trabajo.

2.5.5 CONTROL DE CALIDAD.....	33
2.6 VALIDACIÓN.....	33
2.6.1 DEFINICIÓN DE VALIDACIÓN DE UN SISTEMA DE APOYO CRÍTICO.....	33
2.6.2 ESTRATEGIA DE VALIDACION.....	33
2.6.3 PROCEDIMIENTOS.....	34
2.6.4 CONTROL DE CAMBIOS.....	34
2.6.5 TIPOS DE VALIDACIÓN.....	35
2.6.5.1 VALIDACIÓN PROSPECTIVA.....	35
2.6.5.2 VALIDACIÓN CONCURRENTE.....	35
2.6.5.3 VALIDACIÓN RETROSPECTIVA.....	36
2.6.5.4 REVALIDACIÓN.....	36
2.6.6 ETAPAS DE LA VALIDACIÓN.....	36
2.6.6.1 CALIFICACIÓN DE DISEÑO (CD).....	37
2.6.6.2 CALIFICACIÓN DE INSTALACIÓN (CI).....	37
2.6.6.3 CALIFICACIÓN OPERATIVA (CO).....	37
2.6.6.4 CALIFICACIÓN FUNCIONAL (CF).....	38
3. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN Y JUSTIFICACIÓN.....	39
4. OBJETIVOS.....	42
5. METODOLOGÍA.....	43
5.1 LUGAR DE MUESTREO.....	43
5.2 RECOLECCIÓN DE MUESTRAS.....	43
5.3 ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DEL AGUA	45
5.4 DETERMINACIÓN DE MESÓFILOS, MOHOS Y LEVADURAS.....	46
5.5 DETERMINACIÓN DE PATÓGENOS.....	46
5.6 PLAN DE VALIDACIÓN.....	47
5.6.1 CONTROL DE EQUIPOS.....	48
5.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	49

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	50
6.1 ESPECIFICACIONES DEL AGUA.....	50
6.2 MEDIDAS DE CONTROL.....	50
6.3 CALIFICACIÓN DE INSTALACIÓN (CI).....	51
6.3.1 CARACTERISTICAS EQUIPOS.....	52
6.3.1.1 FILTRO 5 µm de tamaño de poro.....	52
6.3.1.2 TANQUE DE CARBON ACTIVADO.....	53
6.3.1.3 LECHO MIXTO N°1.....	54
6.3.1.4 LECHO MIXTO N°2	54
6.3.1.5 ELECTROBOMBA DE RECIRCULACIÓN.....	55
6.3.1.6 FILTRO 0.2µm de tamaño de poro.....	56
6.3.1.7 EQUIPO UV.....	56
6.3.1.8 LECHO MIXTO N°3 O POLISHER.....	57
6.3.1.9 FILTRO 0.1µm de tamaño de poro.....	58
6.3.1.10 MATERIALES EN CONTACTO CON EL PRODUCTO.....	58
6.3.1.11 INSTRUMENTACIÓN.....	59
6.4 CALIFICACIÓN OPERATIVA (CO).....	60
6.4.1 LIMITES OPERACIÓN.....	60
6.4.2 MANTENIMIENTO DE EQUIPOS.....	61
6.4.3 CALIBRACIÓN.....	62
6.4.4 SANITIZACIÓN Y LIMPIEZA.....	63
6.5 CALIFICACIÓN FUNCIONAL (CF).....	65
6.5.1 Verificación de SOP	66
6.6 FASE CONCURRENTE.....	67
6.6.1 REPRODUCIBILIDAD DEL SISTEMA.....	67
6.6.1.1 DETERMINACIÓN pH.....	67
6.6.1.2 DETERMINACIÓN DE PATÓGENOS.....	70
6.6.1.3 RECUENTO DE MESÓFILOS.....	70

6.6.1.4	RECuento de Mohos y Levaduras.....	72
6.6.1.5	Verificación del funcionamiento del sistema.....	73
6.6.1.6	Pruebas bajo condiciones de estrés.....	73
6.6.2	Análisis estadístico pH.....	75
6.6.2.1	Gráficas de control.....	75
6.6.2.2	Capacidad de proceso.....	76
6.6.3	Niveles de alerta, acción y críticos.....	77
6.6.3.1	pH.....	78
6.6.3.2	Microbiológicos.....	79
6.6.4	Medidas correctivas.....	79
6.7	Mantenimiento validación.....	83
6.7.1	Plan rutinario control físicoquímico y microbiológico.....	83
6.7.1.1	Plan microbiológico.....	84
6.7.2	Plan de sanitización.....	85
6.8	Informe final de la validación.....	86
7.	Conclusiones.....	87
8.	Recomendaciones.....	89
9.	Referencias.....	90
10.	Anexos.....	95

LISTA DE TABLAS

	Pág.
TABLA 1. Medios específicos y diferenciales para patógenos analizados...	47
TABLA 2. Medidas de control para el sistema de purificación de agua.....	50
TABLA 3. Verificaciones de filtro de 5µm de tamaño de poro.....	52
TABLA 4. Verificaciones de tanque de carbón activado.....	53
TABLA 5. Verificaciones de tanque de lecho mixto # 1.....	54
TABLA 6. Verificaciones de tanque de lecho mixto # 2.....	55
TABLA 7. Verificaciones de la electrobomba.....	55
TABLA 8. Verificaciones del filtro de 0,2µm de tamaño de poro.....	56
TABLA 9. Verificaciones del equipo de luz UV.....	57
TABLA 10. Verificaciones de tanque lecho mixto # 3.....	57
TABLA 11. Verificaciones del filtro de 0,1µm de tamaño de poro.....	58
TABLA 12. Verificación de materiales en contacto con el agua.....	58
TABLA 13. Límites operacionales.....	60
TABLA 14. Verificación de mantenimiento de equipos.....	61
TABLA 15. Cambio de filtros.....	61
TABLA 16. Calibración de equipos.....	62
TABLA 17. Procedimientos Operacionales Estandarizados requeridos para el correcto funcionamiento del sistema de purificación.....	66
TABLA 18. Determinación de patógenos durante el período de validación.....	70
TABLA 19. Resultado de recuento de mesófilos en la fase 1.....	71
TABLA 20. Resultado de recuento de mesófilos en la fase 2.....	71
TABLA 21. Resultado de recuento de mesófilos en la fase 3.....	71
TABLA 22. Resultado de recuento de mohos y levaduras durante las tres fases.....	72
TABLA 23. Sistema de purificación bajo condiciones adversas.....	73
TABLA 24. Evaluación capacidad de proceso.....	77

TABLA 25. Niveles de alerta, acción y críticos para el pH del agua.....	78
TABLA 26. Niveles de alerta, acción y críticos para el recuento de mesófilos.....	79
TABLA 27. Niveles de alerta, acción y críticos para el recuento de mohos y levaduras.....	79
TABLA 28. Acciones correctivas.....	79
TABLA 29. Verificación de las etapas de la validación.....	86

LISTADO DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Desionización.....	26
Figura 2. Regeneración de lecho mixto.....	27
Figura 3. Efecto luz UV en el material genético de los microorganismos.....	39
Figura 4. Generación de luz UV.....	30
Figura 5. Resultados medición pH en fases 1, 2 y 3.....	67
Figura 6. Resultado medición de pH durante la fase 3.....	67
Figura 7. Tendencia de comportamiento del pH.....	69
Figura 8. Gráfica de control para pH.....	76

LISTA DE ANEXOS

- ANEXO 1. Cronología de la regulación para los suplementos alimenticios.
- ANEXO 2. Proceso producción de suplementos nutricionales.
- ANEXO 3. Agua para usos farmacéuticos.
- ANEXO 4. Proceso sistema de purificación de agua.
- ANEXO 5. Componentes del tanque de carbón activado.
- ANEXO 6. Tanque de lecho mixto.
- ANEXO 7. Procedimiento experimental para mesófilos, mohos y levaduras.
- ANEXO 8. Procedimiento experimental para determinación de patógenos.
- ANEXO 9. Ciclo de validación de un sistema de agua.
- ANEXO 10. Resultados de análisis químicos y microbiológicos desde Octubre de 2008 hasta septiembre de 2009.
- ANEXO 11. Análisis de tendencias.
- ANEXO 12. Verificación funcionamiento del sistema (Octubre de 2008, Marzo de 2009 y Septiembre de 2009).
- ANEXO 13. Cálculos gráficas de control X-R y Cp.
- ANEXO 14. Características del agua de la ciudad (Davie, FL).
- ANEXO 15. Medios de cultivo.

RESUMEN

El agua es la materia prima de mayor uso en la industria nutracéutica, ya sea como disolvente o ingrediente para los preparados nutracéuticos, en el lavado de envases o en las operaciones de limpieza de áreas y equipos en los procesos de fabricación (Organización Mundial de la Salud, OMS, 2002). El agua necesita cumplir con una serie de exigencias de calidad, por lo tanto debe ser procesada antes de ser utilizada (Medina *et al.*, 2003). Este trabajo consistió en realizar la validación del sistema de purificación de agua en cumplimiento con las regulaciones gubernamentales, organismos nacionales (FDA) como internacionales (OMS) quienes exigen que los procesos de producción de nutracéuticos se encuentren validados, con el fin de contribuir con los procesos de mejoramiento de la calidad de una empresa manufacturera de suplementos alimenticios.

En este estudio se comprobó el correcto funcionamiento del sistema de purificación mediante la calificación de la instalación, donde se verificaron las características de los equipos y la instalación referente a las especificaciones técnicas; la calificación operacional, donde se describieron los ensayos a realizar para comprobar la operatividad de los equipos y la existencia de los programas de mantenimiento, control de cambios, control de documentación, calibración, sanitización y limpieza; seguidamente se realizó la calificación del sistema o funcionamiento, donde se verificó la consistencia y fiabilidad del proceso de obtención de agua en tres etapas comprendidas entre Octubre de 2008 y Septiembre de 2009. En cada una de estas etapas se midieron los parámetros físicos-químicos y microbiológicos del agua, teniendo como referencia las especificaciones emitidas por la USP XXXII y la FDA. La variabilidad de la calidad del agua referente al pH se analizó

mediante gráficas de control X-R y la determinación de la capacidad del proceso.

Finalizado el estudio de validación se comprobó que el sistema de purificación de agua cumple con las especificaciones y las funciones necesarias con el tipo de agua de grado purificada según la USP XXXII y se implementó un plan de muestreo para garantizar el correcto control de los diferentes parámetros físico-químicos y microbiológicos del agua obtenida.

ABSTRACT

Water is the most used raw material in the nutraceutical industry, it is used as a solvent, as an ingredient in nutraceutical preparations as part for the cleaning of components, equipment and facilities (OMS, 2002). In order to meet the quality requirements established by the federal and local authorities, the water needs to be processed before being used as described above; such process is known as water purification. The objective of this project was to validate the water purification system, in order to contribute to the quality improvement process in a nutritional supplements manufacturing company.

This study verified the appropriate purification system operation through the evaluation of the system *installation qualification* (IQ). *The operational qualification*, which described the tests performed to check equipment operability and the existence of maintenance programs, change control, document control, calibration, sanitation and cleaning. Then the performance qualification was conducted to verify the consistency and reliability of the process, by means of obtaining water samples in three stages between October 2008 and September 2009. In each of these stages physical, chemical and microbiological water parameters were measured, using as reference the USP XXXII and FDA specifications. The variability of water quality regarding the pH was analyzed using X-R control charts and determining process capability.

This study found that the water purification system meets with the required specifications and features for a purified grade water according to USP XXXII.

A sampling plan was implemented to ensure proper control of the different physical, chemical, and microbiological parameters obtained from the water.

1. INTRODUCCIÓN

La calidad de un producto nutracéutico debe estar comprobada tanto para cumplir con las exigencias de las autoridades sanitarias, así como para brindar un producto eficaz y seguro al consumidor; por ello la industria nutracéutica se ha preocupado por implementar metodologías que la garanticen. Es así como los procesos de validación se hacen indispensables para el aseguramiento de la calidad de los suplementos nutricionales.

La validación de procesos se define como la recolección y evaluación de datos desde el estadio de diseño del proceso, hasta la producción con el fin de consolidar mediante evidencia científica que el proceso es capaz de proporcionar consistentemente una mínima variabilidad.

Un caso particular son los sistemas de apoyo crítico tales como los sistemas que producen vapor, aire comprimido y agua; estos cumplen un importante papel en la industria nutracéutica debido a la utilización que tienen en los procesos de producción. Entre ellos se encuentra el sistema de purificación de agua que comprende el proceso de desionización, filtración y desinfección, motivo del presente estudio.

El servicio de desionización (SDI) es un proceso que produce agua purificada consistiendo básicamente en un pre-filtro, un tanque de carbón activado, un tanque de desionización y un proceso de desinfección, interconectando mangueras, calibradores de presión, reguladores de presión e indicadores electrónicos de la calidad. El SDI es uno de los sistemas más costo-efectivos y no necesita manejar los productos químicos peligrosos de la regeneración.

El propósito de la filtración previa es eliminar los sólidos de un tamaño de 5 μ m a 10 μ m provenientes del suministro de agua que ingresa al sistema

(agua de la ciudad); los lechos de carbón activado adsorben material orgánico de bajo peso molecular y aditivos oxidantes, como por ejemplo compuestos que contengan cloro y cloramina, eliminándolos del agua; la desionización se emplea para eliminar iones suspendidos en el agua. Cuando se disuelven iones (sales y minerales) en el agua son contaminantes que deben ser removidos antes de que el agua se considere purificada; finalmente el uso de lámparas ultravioleta (UV) emiten una longitud de onda de 254nm para el control microbiano, pero también está surgiendo la aplicación de la UV en la purificación química.

Si bien las diferentes farmacopeas describen varios tipos de aguas para uso farmacéutico, en líneas generales se pueden dividir en dos grandes grupos: el Agua Purificada (PW*: Purified Water) y el Agua para Inyección (WFI*: Water for Injection). Ambos tipos de agua son definidos de la misma forma desde el punto de vista químico, pero difieren en los requerimientos de pureza.

El diseño, la instalación y la operación de sistemas para producir Agua Purificada y Agua para Inyección incluyen componentes, técnicas de control y procedimientos similares. Los atributos de calidad de ambas aguas sólo difieren en la existencia de un requisito relativo a endotoxinas bacterianas para el Agua para Inyección y en sus métodos de preparación. Las semejanzas en los atributos de calidad proporcionan una base común considerable para el diseño de sistemas de agua que cumplan alguno de estos requisitos. La diferencia crítica consiste en el grado de control del sistema y en las etapas finales de purificación necesarias para asegurar la eliminación de bacterias y endotoxinas bacterianas.

El agua purificada, objeto de estudio del presente trabajo, se emplea como excipiente en la producción de preparaciones no parenterales y en otras

aplicaciones nutracéuticas, como por ejemplo la limpieza de determinados equipos y componentes que entran en contacto con el equipo no parenteral. A menos que se especifique algo diferente, el *Agua purificada* también se debe usar para todas las pruebas y valoraciones en las que se indique.

El agua purificada debe cumplir con los requisitos de pureza química, iónica y orgánica, y debe protegerse de la contaminación microbiana. La calidad mínima del agua fuente, o agua de alimentación para la producción de *Agua Purificada* es la del Agua Potable. Esta agua de alimentación puede purificarse usando operaciones unitarias que incluyen la destilación, intercambio iónico, ósmosis inversa, desionización, filtración u otros procedimientos de purificación adecuados.

El objetivo de este estudio es validar el sistema de purificación de agua empleado en una compañía manufacturera de suplementos nutricionales en cumplimiento con las regulaciones gubernamentales, organismos nacionales (FDA) como internacionales (OMS) que exigen que los procesos de producción de formas farmacéuticas se encuentren validados.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 INDUSTRIA NUTRACÉUTICA

Se conoce como industria nutracéutica al conjunto de operaciones de manufactura, empaqueo, almacenaje y distribución de suplementos naturales o dietéticos que en la actualidad se encuentran disponibles en el mercado sin necesidad de una prescripción médica.

Los suplementos nutricionales son productos elaborados a base de nutrientes y otros componentes presentes en los alimentos, con el propósito de suplir las necesidades particulares de nutrición, determinadas por condiciones físicas, fisiológicas o metabólicas específicas (Food & Drugs Administration, FDA, 2008).

A diferencia de los medicamentos OTC (over the counter) que al igual que los suplementos nutricionales no requiere de prescripción médica y son de venta libre, los suplementos nutricionales no son registrados ante la Administración de Drogas y Alimentos (FDA, 2008).

Por décadas, la FDA reguló los suplementos nutricionales como alimentos con el propósito de asegurar la calidad del producto. En 1994 la ley de educación y salud para los suplementos nutricionales (DSHEA, Dietary Supplement Health and Education) fue creada, donde los suplementos dietéticos obtuvieron sus primeras regulaciones diferenciándolos de las regulaciones de alimentos y medicamentos (anexo 1). DSHEA comisionó al FDA para ser la entidad reguladora de los suplementos nutricionales y es responsable de tomar medidas contra cualquier suplemento que no sea seguro una vez se encuentre en el mercado (FDA, 2008).

En el 2006 el FDA estimó que los ciudadanos americanos gastan más de \$8500 mil millones de dólares por año en suplementos nutricionales y el mercado mundial se estima en los \$60 mil millones de dólares; la mayor parte de los consumidores (el 74%) están de acuerdo que el gobierno debe prestar una mejor atención sobre control de los suplementos nutricionales, para garantizar su seguridad y eficacia (Forero y Piedrahita, 2008).

En junio de 2007, el senado aprobó como ley federal las buenas prácticas de manufactura (GMP's) para los suplementos nutricionales - código de la regulación federal (CFR), capítulo 21 parte 111. Estas regulaciones se enfocan hacia la fabricación, el embalaje, etiquetado, almacenaje y la distribución de los suplementos dietéticos (FDA, 2008).

2.2 SUPLEMENTO ALIMENTICIO

La FDA considera tradicionalmente un suplemento dietético o alimenticio, como un producto compuesto por vitaminas, minerales o proteínas con el propósito de proporcionar nutrientes que pueden ser encontrados en bajos niveles debido a los malos hábitos nutricionales. La ley de educación y etiquetado nutricional (NLEA (The Nutrition Labeling and Education) de 1990, incluye hierbas o sustancias nutricionales similares a está, como el Ginseng (plantas aromáticas de China), ajo, aceite de pescados, enzimas, semillas de Physillum, gránulos y mezclas, como suplementos dietéticos (Forero y Piedrahita, 2008).

2.2.1 PRODUCCION DE SUPLEMENTOS DIETARIOS

Ver diagrama Anexo 2. El proceso de producción de suplementos nutricionales comprende los siguientes pasos:

- I. Recepción de materia prima
- II. Identificación de materiales
- III. Pesaje de componentes
- IV. Mezclado de componentes
- V. Fabricación o producción de cápsulas, tabletas o polvo
- VI. Recubrimiento para tabletas
- VII. Envasado
- VIII. Almacenamiento
- IX. Despacho

Dentro de este proceso, se emplea agua para la preparación de los agentes de limpieza y desinfección, como diluyente en el laboratorio y en su gran mayoría para la preparación de la solución de recubrimiento de tabletas.

2.3 AGUA EN LA INDUSTRIA NUTRACÉUTICA

(Anexo 3) El agua utilizada en la industria farmacéutica y disciplinas relacionadas se clasifica por la USP XXXII como:

- ✓ Agua potable
- ✓ Agua purificada (motivo de este estudio)
- ✓ Agua estéril purificada
- ✓ Agua para inyección
- ✓ Agua estéril para inyección
- ✓ Agua bacteriostática para inyección
- ✓ Agua estéril para irrigación
- ✓ Agua estéril para inhalación

El agua purificada se emplea como excipiente en la producción de preparaciones no parenterales y en otras aplicaciones farmacéuticas, como por ejemplo la limpieza de determinados equipos y componentes que entran en contacto con el producto no parenteral. A menos que se especifique algo diferente, el agua purificada se debe usar para todas las pruebas y valoraciones en las que se requiera agua. El agua purificada debe cumplir con los requisitos de pureza química, iónica, orgánica, y debe protegerse de la contaminación microbiana (United States Pharmacopeial Convention, USP, 2008).

Este tipo de agua puede purificarse empleando operaciones unitarias que incluyen la desionización, destilación, intercambio iónico, ósmosis reversa, filtración u otros procedimientos de purificación adecuados (USP, 2008).

2.4 SISTEMA DE PURIFICACIÓN DE AGUA

El esquema se encuentra en el anexo 4.

2.4.1 CIRCULACIÓN DE AGUA EN EL SISTEMA

Mediante una válvula se da apertura a la entrada de agua de la ciudad, la cual pasa por un medidor de flujo y pasa por un filtro de partículas de 5 μ m de tamaño de poro; seguidamente pasa al tanque de carbón activado donde son eliminados los olores y materia orgánica. Posteriormente pasa al tanque de lecho mixto #1 y #2 donde se desioniza el agua; luego mediante una electrobomba se impulsa el agua hacia un filtro de bacterias de 0.2 μ m de tamaño de poro. Una vez completado este paso, el agua pasa a través de un sistema de desinfección por luz ultravioleta en el cual dos lámparas actúan sobre el agua a una longitud de onda de 254nm. El agua continua a un tercer lecho mixto o polisher y pasa a un filtro de bacterias de 0.1 μ m de tamaño de

poro. Finalizado este proceso se encuentra un dispositivo electrónico que mide la resistividad y la temperatura del agua.

Finalmente se mide la cantidad de galones por minuto del producto que queda circulando en el sistema, este debe estar en un rango de 5 a 10gpm. El agua no utilizada continua recirculando dinámicamente, pasando por todo el sistema una y otra vez.

2.4.2 FILTRACIÓN

La filtración consiste en la remoción de partículas suspendidas y coloidales presentes en una suspensión acuosa que escurre a través de un medio poroso. En general, la filtración es la operación final de clarificación que se realiza en una planta de tratamiento de agua y, por consiguiente, es la responsable principal de la producción de agua de calidad coincidente con los estándares de potabilidad (OPS, 2002).

2.4.3 LECHO DE CARBÓN ACTIVADO

(Anexo 5) Los lechos de carbón activado adsorben material orgánico de bajo peso molecular y aditivos oxidantes, como por ejemplo, compuestos que contengan cloro y cloramina, eliminándolos del agua (USP, 2008).

Al quitar por adsorción la clorina y algunas sustancias orgánicas del agua se amplía la vida de las resinas de intercambio iónico y también ayuda a prevenir una acumulación de materia orgánica en los lechos. Cuando el agua pasa a través de una cama de carbón activado, los contaminantes se fijan por adsorción en los poros del carbón. El índice de adsorción depende del peso molecular y del tamaño del contaminante, y del tipo de carbón utilizado (US Filter, 2000).

2.4.3.1 ACTIVACIÓN DEL CARBÓN

En la preparación se aplican procesos térmicos que implican la deshidratación del material y la calefacción en ausencia de aire (carbonización), seguidos por el tratamiento oxidante (activación) a alta temperatura (200-1000 °C), que desarrolla una estructura porosa en el carbón y crea una gran superficie interna. La activación consiste, esencialmente, en una oxidación selectiva de los hidrocarburos residuales en el sólido, que se realiza con anhídrido carbónico, vapor de agua, aire u otro agente oxidante. También se puede emplear un tratamiento químico húmedo a más bajas temperaturas mediante agentes tales como el ácido fosfórico, el hidróxido potásico o el cloruro de zinc (LENNTECH, 1998).

2.4.3.2 ADSORCIÓN DE MATERIAL ORGÁNICO

Las moléculas en fase de gas o de líquido son unidas físicamente a una superficie, en este caso la superficie es de carbón activado. El proceso de la adsorción ocurre en tres pasos:

- Macro transporte: Movimiento del material orgánico a través del sistema de macro-poros del carbón activado (macro-poros > 50nm)
- Micro transporte: Movimiento del material orgánico a través del sistema de micro-poros del carbón activado (microporo < 2nm; mesoporo 2-50nm)
- Adsorción: Adhesión física del material orgánico a la superficie del carbón activo en los meso-poros y micro-poros del carbón activado.

El nivel de actividad de la adsorción depende de la concentración de la sustancia en el agua, la temperatura y la polaridad de la sustancia. Una sustancia polar (soluble en agua) es difícilmente o en algunos casos no puede ser adsorbida por el carbón activo, mientras que una sustancia no

polar (soluble en solventes orgánicos) puede ser totalmente retenida por el carbón activo (LENNTECH, 1998)

El carbón activo se puede considerar constituido por un aglomerado rígido de microcristales, cada uno de los cuales está formado por una pila de planos gráficos. Cada átomo dentro de un determinado plano está unido a cuatro átomos de carbono adyacentes. Así, los átomos de carbono en los bordes de los planos presentan una alta actividad disponible. En estos “sitios” tiene lugar la adsorción. A medida que los sitios se van llenando, se va alcanzando el equilibrio de adsorción y la calidad del efluente va disminuyendo. La química de la superficie de un carbón influye sobre la velocidad y la capacidad de la adsorción debido a la interacción entre superficie y adsorbatos. Los grupos funcionales sobre esta superficie tienen gran influencia sobre las propiedades adsorbentes respecto de los posibles adsorbatos. Estos grupos pueden ser carboxílicos, fenólicos, hidroxilo, carbonilo o peróxidos (LENNTECH, 1998).

2.4.4 DESIONIZACIÓN (DI)

El proceso de intercambio iónico elimina solamente las sales o los iones disueltos así como las moléculas orgánicas de bajo peso molecular, este proceso se evidencia en la figura 1 (US Filter, 2000).

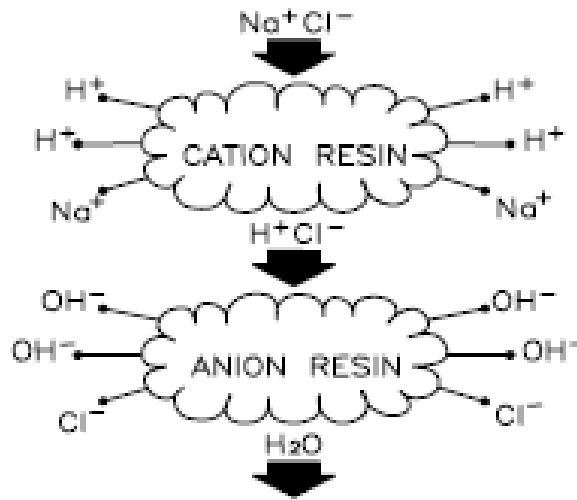


Figura 1. Desionización. Tomado de US Filter., 2000

Durante el proceso de intercambio iónico, ciertos iones de una carga dada se substituyen (o se intercambian) por diversos iones de la misma carga. Los iones cargados positivamente son reemplazados con iones hidrogeno (H^+) y los iones cargados negativamente son reemplazados con hidróxido (OH^-). Estos iones de reemplazo (componentes del agua pura) son proporcionados por las resinas de intercambio iónico - granos del polímero que son químicamente estructurados para mantener una abundancia de iones cargados positivamente y negativamente - para atraer y remover los iones contaminantes del agua (US Filter, 2000).

El sistema motivo del presente estudio, está diseñado de manera que las resinas aniónicas y catiónicas están mezcladas entre sí para formar un lecho mixto.

2.4.4.1 LECHO MIXTO

(Anexo 6) Cuando el agua pasa a través de una cama que contiene una mezcla de resinas de intercambio de cationes y aniones, el proceso se llama

intercambio de iones de lecho mixto. Típicamente, un tanque de lecho mixto contiene 40% de resina catiónica y 60% de resina aniónica (Aquatech International Corporation, AIC. 2003). Los sistemas de lecho mixto producen agua de la alta calidad con una resistencia de hasta 18.3 MΩ-cm a 25°C, removiendo contaminantes y proporcionando un pH mas neutral (US Filter, 2000).

2.4.4.2 REGENERACIÓN

Cuando los granos de la resina se saturan con los iones del contaminante es momento de regenerar los tanques de intercambio iónico y este punto de saturación es determinado generalmente por una disminución de la calidad del agua que sale del sistema de intercambio iónico.

En la Figura 2 se muestra el proceso de intercambio iónico en las resinas.

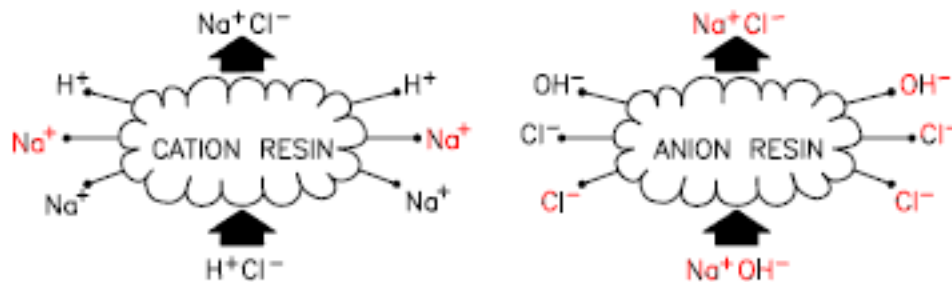


Figura 2.Regeneración de lecho mixto. Tomado de US Filter., 2000.

Durante la regeneración, los granos de la resina del catión son vueltos a su forma del hidrógeno tratándolos con ácido clorhídrico. Los granos de la resina del anión son retornados a su forma de hidróxido tratándolos con cáustico o hidróxido de sodio (NaOH). Los granos se exponen a una alta concentración de ácido o de cáustico, que hace que los granos lancen los

iones del contaminante. Así, la regeneración invierte el proceso que ocurrió durante el intercambio de iones (US Filter, 2000; USP, 2008).

2.4.5 DESINFECCION

La desinfección es un proceso físico o químico que mata o inactiva a los microorganismos tales como bacterias, virus y protozoos de objetos, superficies o en este caso, del agua. Este proceso es requerido para proteger la integridad de los resultados de la prueba bacteriológica, la producción y/o prevenir la ocurrencia de fallos (Arias, 2006; United States Environmental Protection Agency, EPA. 2009).

2.4.5.1 EMPLEO DE LUZ ULTRAVIOLETA (UV)

La luz ultravioleta es parte del espectro electromagnético de radiación la cual también es emitida por el sol. Está situada entre las bandas de rayos X y la luz visible, con longitudes de onda que van desde 180 hasta 400 nanómetros (nm).

La luz ultravioleta, conocida generalmente como UV, es emitida de forma natural en tres diferentes bandas UV-A, UV-B y UV-C. Así pues, la radiación con mayor efecto germicida se encuentra entre las bandas UV-C Y UV-B correspondiendo a 200 y 300nm (Diaz, F., Serrano, L. 2008).

Se ha determinado que a longitud de onda a 254 nm generada por emisores monocromáticos (presión baja) proporcionan la máxima efectividad germicida, inactivando los cinco principales grupos de microorganismos -- virus, bacterias, hongos, algas, y protozoos—. Cuando estos organismos se exponen a la radiación UV, ésta penetra la pared celular llegando hasta el núcleo donde se encuentra el material genético (ADN/ARN) modificandolo de

manera que no puede reproducirse como se muestra en la figura 3. Los microorganismos se consideran muertos y el riesgo de contraer una enfermedad, es nulo. (Contaminación y Purificación del Agua, 2003; Diaz, F., Serrano, L. 2008).

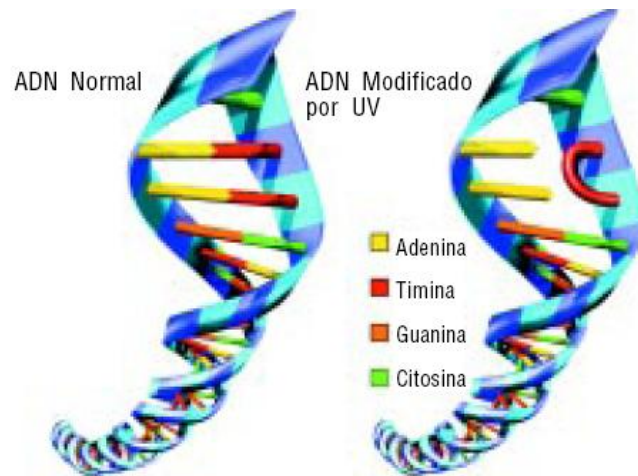


Figura 3. Efecto luz UV en material genético de los microorganismos. Tomado de Diaz, F., Serrano, L. 2008.

2.4.5.1.1 GENERACIÓN LUZ ULTRAVIOLETA

La desinfección por UV utiliza la luz como fuente encerrada en un estuche protector, montado de manera que, cuando pasa el flujo de agua a través del estuche, los rayos ultravioleta son emitidos y absorbidos dentro del compartimiento, generando así, la eliminación o remoción de microorganismos (USP. 2008). Esta generación de luz UV se muestra en la figura 4.

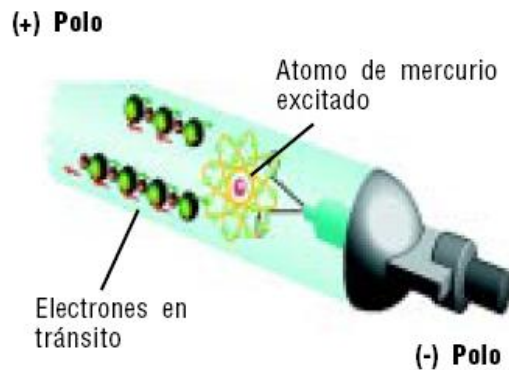


Figura 4. Generación Luz UV. Tomado de Díaz, F., Serrano, L. 2008.

En la figura 4 se observa como la luz UV es emitida por tubos de cuarzo que contienen vapor de mercurio. Cuando se induce una corriente eléctrica en los polos, se genera un arco voltaico que ioniza los átomos de este metal (Hg); los electrones incrementan su energía hasta que son convertidos en fotones de luz UV (Díaz, F., Serrano, L. 2008).

2.4.6 HIGIENIZACIÓN

Es un procedimiento que permite reducir los niveles microbianos al impedir la formación de biopelículas y al ejercer un efecto biocida sobre ellos, para lograr que los sistemas se mantengan en un estado de control microbiológico y no excedan en forma rutinaria los niveles de alerta (USP, 2008).

Dentro de los métodos de higienización de los sistemas se encuentran principalmente medios térmicos y químicos. Los enfoques térmicos para la higienización del sistema incluyen la circulación periódica o continua de agua caliente y el uso del vapor. Comúnmente se usan para este propósito temperaturas de al menos 80°C, pero una recirculación continua de agua a una temperatura de al menos 65°C también se ha empleado eficazmente en sistemas de distribución de acero inoxidable aislados, cuando se presta

atención a la uniformidad y distribución de tales temperaturas de autohigienización; los enfoques químicos dependen de la compatibilidad con los materiales de construcción. Estos métodos emplean agentes oxidantes entre los que se incluyen compuestos halogenados, peróxido de hidrogeno, ozono, ácido peracético o combinaciones de estos (USP, 2008).

La luz UV en línea a una longitud de onda de 254nm también se puede usar para higienizar de manera continua el agua que circula en el sistema, pero el tamaño de estos dispositivos debe determinarse adecuadamente para el flujo de agua. Tales dispositivos inactivan un alto porcentaje de los microorganismos pero no se pueden usar directamente para controlar biopelículas existente en ubicaciones en el sistema anteriores o posteriores a la del dispositivo (USP, 2008).

2.5 CONCEPTOS GENERALES

2.5.1 CALIDAD

Según la Organización Internacional de Normalización (ISO), calidad es definida como la totalidad de características de una entidad que le otorgan su aptitud para satisfacer necesidades establecidas e implícitas (Medina *et al.*, 2003).

Entidad significa producto, proceso, organización o cualquier combinación de éstos donde producto es el resultado de los procesos y actividades; necesidades establecidas, son requerimientos expresados, redactados y fácilmente reconocibles; necesidades implícitas, son las que no se expresan, pero que es evidente deben cumplirse; satisfacer necesidades, implica atender no sólo las del cliente (destinatario final del producto o servicio), sino

también las del proveedor (quien espera obtener un beneficio de ese producto o servicio) (Medina *et al.*, 2003).

2.5.2 GESTION DE CALIDAD

Conjunto de actividades coordinadas para dirigir y controlar una organización en lo relativo a la calidad. Generalmente incluye el establecimiento de la política y los objetivos de la calidad, así como la planificación, el control, el aseguramiento y la mejora de la misma (CHALONER *et al.*, 1998).

2.5.3 ASEGURAMIENTO DE CALIDAD

Se define como todas las actividades planificadas y sistemáticamente implementadas dentro del sistema de calidad, y evidenciadas como necesarias para dar adecuada confianza de que una entidad cumplirá los requisitos de calidad (Medina *et al.*, 2003).

De esta forma, el aseguramiento de calidad pretende que el producto reúna las características necesarias para satisfacer y dar confianza en todos los requisitos del Sistema de Información (MINISTERIO DE ADMINISTRACIONES PUBLICAS. 1998).

2.5.4 Buenas Prácticas de manufactura (BPM)

Se definen como el conjunto de aquellos procedimientos necesarios para obtener productos de calidad aceptables, mediante controles durante el proceso, pruebas de laboratorio e inspección del producto terminado (Castillo, 2002). Este conjunto de normas son establecidas por el gobierno federal y ejercidas por la FDA.

2.5.5 CONTROL DE CALIDAD

Es aquella parte de las BPM encargada del muestreo, las especificaciones, las pruebas, documentación de los procedimientos de liberación para asegurar que efectivamente se han realizado los controles necesarios y que no se han liberado los materiales, ni se han liberado productos para la venta o el suministro hasta cuando la calidad se juzgue y considere satisfactoria (Ponce, 1992).

2.6 VALIDACIÓN

Se define como la colección y evaluación de datos que establecen evidencia científica que un proceso es capaz de entregar constantemente productos de calidad (FDA, 2008).

2.6.1 DEFINICIÓN DE VALIDACIÓN DE UN SISTEMA DE APOYO CRÍTICO

Un sistema de apoyo crítico es aquel sistema que apoya las actividades de fabricación de los productos farmacéuticos, teniendo una incidencia directa en la calidad de los mismos. La validación del sistema de apoyo crítico es un programa documentado que evidencia el correcto funcionamiento del sistema para que produzca en forma consistente y en conformidad con las especificaciones previamente establecidas (Medina *et al.*, 2003).

2.6.2 ESTRATEGIA DE VALIDACION

Toda validación necesita de una estrategia, por lo tanto se debe disponer de un diseño experimental apropiado, de una metodología adecuada y de un bien elaborado estudio estadístico de los datos obtenidos

experimentalmente. Esta metodología debe ser aplicada a cada uno de los factores críticos contemplados dentro del proceso productivo (Medina *et al.*, 2003).

En un proceso de validación se deben tener en cuenta todos aquellos aspectos que puedan incidir en la seguridad y efectividad del producto. Otro punto importante es que el producto objeto de la validación debe haber sido obtenido utilizando el diseño y el proceso de manufactura previamente establecido (Medina *et al.*, 2003).

Toda la información es reunida para la elaboración de un plan maestro de validación y el protocolo de validación, los cuales certifican el proceso de validación.

2.6.3 PROCEDIMIENTOS

Son documentos que detallan todas las operaciones y métodos específicos en una industria. Los procedimientos son escritos en forma clara, lo cual asegura que sean comprendidos y ejecutados por el personal responsable de operar los equipos del proceso. Los procedimientos son ejecutados durante el estudio de validación a fin de obtener datos experimentales adecuados para apoyar su efectividad. El programa de validación para este sistema de tratamiento de agua incluye la verificación de los procedimientos utilizados para operar el sistema y mantenerlo dentro de un estado de control (Medina *et al.*, 2003).

2.6.4 CONTROL DE CAMBIOS

El control de cambios es un procedimiento formal que explica cómo controlar situaciones críticas de cambio en los materiales, equipos, procesos y

técnicas analíticas. El control de cambios se ciñe a un determinado procedimiento y se encuentra detallado en un documento de garantía (Chaloner *et al.*, 1998; Medina *et al.*, 2003).

El procedimiento de control de cambios incluirá la planificación y la presentación de una propuesta de cambio en la que se indique la justificación de éste y se calculen las repercusiones sobre la función, la operación y el funcionamiento del equipo o sistema. Antes de realizar cualquier cambio en un equipo, sistema, prueba o sistema aprobado y validado, se deberá realizar la evaluación y aprobación mediante el procedimiento de control de cambios (Medina *et al.*, 2003).

2.6.5 TIPOS DE VALIDACIÓN

2.6.5.1 Validación Prospectiva

Consiste en establecer evidencia documentada para demostrar que un proceso cumplirá con sus propósito, basados en información obtenida antes de la implementación del mismo, es decir, se hace antes de que el proceso entre a formar parte de la fabricación comercial (Arias, 2006).

2.6.5.2 Validación Concurrente

Consiste en establecer evidencia documentada para demostrar que un proceso cumplirá con sus propósitos, basados en información adquirida durante la fabricación de rutina. Su aplicación es útil en productos existentes pero que no tienen un gran historial y en productos nuevos en sus primeros lotes de fabricación (González, 2005; Arias, 2006).

2.6.5.3 Validación Retrospectiva

Consiste en establecer evidencia documentada para demostrar que un proceso cumplirá con sus propósitos, basados en información de los antecedentes históricos del producto, obtenidos a partir de los registros de producción y control de calidad. Se aplica para productos que ya se encuentran en el mercado y que no han sido validados anteriormente (González, 2005; Arias, 2006).

2.6.5.4 Revalidación

Consiste en establecer evidencia documentada para demostrar que un proceso cumplirá con sus propósitos, cuando se ha introducido alguna variable en algún procedimiento o metodología de un producto ya validado anteriormente, por lo que se alteran las características del producto final (González, 2005; Arias, 2006).

2.6.6 ETAPAS DE LA VALIDACIÓN

Dependiendo de la función y operación de los sistemas o equipos se requerirá de una calificación de diseño (CD), calificación de instalación (CI), calificación operativa (CO) y calificación funcional (CF). Si el sistema ya se encuentra instalado ya no será necesaria la CD. En el caso de equipos cuya operación correcta es un indicador suficiente de su funcionamiento y que se monitorean y calibran regularmente (por ejemplo potenciómetros, incubadoras, centrífugas, congeladores, etc.) se efectúan la CI y CO. Sistemas tales como los de abastecimiento de aire, agua, vapor y los equipos importantes que desempeñan procesos de apoyo cruciales, como la esterilización (autoclave u horno), la despirogenación (horno o túnel) y la liofilización, requieren de CI, CO y CF (Medina *et al.*, 2003; USP, 2008).

2.6.6.1 Calificación de Diseño (CD)

Es un estudio preliminar documentado para asegurar que la implementación de un diseño es factible. Para esto, se realiza la descripción del sistema y de los equipos, así como las consideraciones sobre el modo de operar (Lerín *et al.*, 1999; Medina *et al.*, 2003).

Asimismo, se definirán los requerimientos del proceso, así como las especificaciones del agua según normativas vigentes.

2.6.6.2 Calificación de Instalación (CI)

Es la verificación documentada de que todos los aspectos importantes de la instalación estén en conformidad con las especificaciones de diseño y con las recomendaciones del fabricante. En el protocolo de Calificación de Instalación se consigna toda la información de identificación, la ubicación, los requisitos de servicios básicos (Medina *et al.*, 2003).

2.6.6.3 Calificación Operativa (CO)

Verificación documentada que demuestra que todos los componentes de un sistema o equipo funcionan según lo especificado. Esto exige someter a prueba todos los controles de operación bajo condiciones normales y bajo condiciones extremas como por ejemplo el cambio de filtro o el reinicio de un equipo después de un corte de luz, todos los puntos de alarma, interruptores, dispositivos visualizadores y cualquier otra indicación de operación y función. Para evidenciar el desempeño del sistema, se documentó los datos obtenidos antes y durante la puesta en marcha del mismo (Medina *et al.*, 2003).

2.6.6.4 Calificación Funcional (CF)

En esta sección se va a demostrar en forma documentada que cada sistema y pieza del equipo realizará la función para la cual está destinada. Teniendo en cuenta que todos los equipos de apoyo utilizados deben haber sido validados (Medina *et al.*, 2003).

3. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN Y JUSTIFICACIÓN

Los suplementos nutricionales se definen como los compuestos naturales de sustancias bioactivas que al ser consumidas en una dosis superior a la existente comúnmente en los alimentos, tienen un efecto favorable sobre la salud; esta clase de sustancias se encuentran en el mercado en varias presentaciones como cápsulas, píldoras o polvos.

El sector industrial de nutracéuticos es un segmento de la economía que ha tenido un crecimiento significativo y que ha excedido a la industria farmacéutica y alimentaria, colocándose como las industrias grandes del futuro (Forero y Piedrahita, 2008)

Los informes sobre la comercialización recientes en Estados Unidos han demostrado que la industria nutracéutica ha tenido ventas sobre diez y ocho trillones de dólares sobre el 2000; es la razón por la que las entidades de la regulación federal de Estados Unidos tales como administración de alimento y de drogas (FDA), protección de la agencia ambiental (EPA), y Comisión comercial federal (FTC) están vigilándola con especial atención (Forero y Piedrahita, 2008).

En la industria nutracéutica existe una gran variedad de productos que han sido fabricados por largo tiempo sin presentar problemas de manufactura o análisis. Sin embargo, en la actualidad se exige que esa calidad demostrada en el tiempo sea documentada de manera adecuada. Para estos productos, la validación de sus procesos de manufactura ofrece una excelente alternativa para asegurar la entrega de la misma calidad en el futuro si se mantienen invariables las etapas del proceso validado (González, 2005).

En los últimos años ha tomado fuerza el concepto de “Aseguramiento de la Calidad”, que no es otra cosa que demostrar que lo que declara calidad, efectivamente la posea.

Una de las prácticas que se menciona en las Guías de las Normas BPM para desarrollar estos procesos de calidad en la industria nutracéutica es a través de la validación (González, 2005), herramienta que nos da la certeza de obtener la optimización y estandarización de procesos al disminuir el tiempo muerto del equipo, dar mayor rapidez y seguridad de las pruebas, así como el desarrollo de estándares y mejores límites de identificación para el proceso; la reducción de costos (preventivos, agregado – inspección/análisis – y costos por fallas externas), la reducción de la probabilidad de fallas en el proceso y por lo tanto reproceso y rechazos permiten reducir los análisis finales e incrementan la productividad (Arias, 2006).

El agua es la materia prima de mayor uso en la producción, procesamiento y formulación de productos nutracéuticos, es componente en la mayoría de sus productos pero también es utilizada en la limpieza de equipos. El agua es una de las materias primas que debe ser procesada por la industria nutracéutica antes de usarla, ya que necesita cumplir con una serie de exigencias de calidad (Medina *et al.*, 2003).

Los sistemas de agua purificada son susceptibles a la formación de biopelículas de microorganismos difíciles de erradicar, que pueden ser fuente de niveles indeseables de endotoxinas o microorganismos viables en el agua efluente del sistema. Estos sistemas de purificación requieren una frecuente higienización y seguimiento microbiológico para asegurar una apropiada calidad microbiológica del agua en los puntos de uso (USP, 2008).

El agua, producto del sistema integrado de purificación en la industria manufacturera de suplementos nutricionales, objeto de estudio, emplea el agua purificada en la preparación de soluciones de limpieza y desinfección, y como ingrediente inactivo en la preparación de las soluciones de recubrimiento de tabletas.

Por referencias bibliográficas, se sabe que al emplearse un tipo de agua que no cumpla con los requerimientos establecidos, ésta no aportará la misma eficacia en la solución de desinfección (Forero Y Piedrahita, 2008) y será causante de contaminación debido a que si el agua contiene residuos orgánicos, estos disminuirán la efectividad del mismo y al presentar probablemente un aumento en la población de microorganismo será una fuente de contaminación; Así mismo, el empleo de agua que no cumpla con las condiciones requeridas para el recubrimiento de capsulas y tabletas en la industria nutracéutica podría afectar el producto terminado y la salud del consumidor (Forero Y Piedrahita, 2008).

Gracias a la validación de un sistema se puede lograr un aseguramiento de la calidad, optimización de procesos y reducción de costos para lograr producir y distribuir agua de calidad microbiológica y química aceptable de manera confiable y regular.

Es por esto, que es necesario validar el sistema de purificación de agua en manufacturera de suplementos nutricionales en cumplimiento con las regulaciones gubernamentales, organismos nacionales (FDA) como internacionales (OMS) que exigen que los procesos de producción de formas farmacéuticas se encuentren validados.

4. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Efectuar la validación del sistema de purificación del agua utilizada en la manufactura de productos no parenterales en una industria de suplementos nutricionales en Davie, Florida.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar que el equipo del sistema de purificación de agua ha sido correctamente instalado de acuerdo a los planos e información proporcionada por el fabricante.
- Evaluar mediante pruebas físico-químicas y microbiológicas la eficiencia del proceso de purificación de agua mediante comparaciones con el agua provista por la ciudad.
- Evidenciar el desempeño del sistema de purificación de agua, mediante la recolección de los datos obtenidos desde octubre de 2008.
- Estandarizar los límites microbiológicos y físico-químicos en los niveles de acción, alerta y crítico.
- Demostrar en forma documentada que el sistema de purificación de agua cumple con las regulaciones gubernamentales.

5. METODOLOGÍA

Este proyecto fue realizado en las instalaciones de una empresa manufacturera de suplementos alimenticios en Davie, Florida.

5.1 LUGAR DE MUESTREO

Los puntos de muestreo fueron elegidos teniendo en cuenta las variables críticas del sistema de purificación, es decir, los puntos donde cualquier desviación de especificación incidiría en la calidad del producto.

El sistema de purificación de agua presenta cuatro puntos de uso: en el laboratorio de microbiología, química, el cuarto de lavado (donde se encuentra ubicado el sistema) y el cuarto de recubrimiento de cápsulas. Las muestras fueron colectadas de los cuatro puntos de uso ubicados en una empresa manufacturera de suplementos alimenticios en Davie, Florida.

5.2 RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

Cada muestreo se realizó eligiendo dos puntos de uso alternadamente. Los puntos de uso muestreados fueron: el laboratorio de microbiología, laboratorio de química, cuarto de lavado y cuarto de recubrimiento.

De cada punto de uso se recolectaron 7 muestras de agua de 100ml cada una, para realizar un análisis microbiológico y físico-químico del punto de uso elegido. Se eligieron dos puntos de uso diarios durante 2 semanas y 1 punto de uso diario las 2 últimas semanas, de igual forma se tomó otro punto de agua que provino de la ciudad dos veces por semana para establecer el control, por tanto, fueron 210 muestras a evaluar durante la tercera etapa.

El proceso de muestreo se llevó a cabo de la siguiente forma:

- a. Desinfección de la salida de agua, roseando alcohol al 70%.
- b. Desinfección de la salida de agua con un paño antiséptico (BD Cat. # 326895)
- c. Dejar secar por 20 minutos.
- d. Abrir la válvula y dejar correr el agua por 1 minuto.
- e. Tomar 3 muestras en frascos estériles de 125ml (VWR Cat. # 97246215) para determinación de mesófilos, patógenos, mohos y levaduras.
- f. Después de 2 minutos de abierta la válvula, tomar 4 muestras en los mismos contenedores estériles para determinación de mesófilos, patógenos, mohos y levaduras y pH.

El proceso de muestreo fue realizado en 3 fases, siguiendo el procedimiento de la OMS, 2002.

FASE 1

Se llevó a cabo durante el mes de octubre de 2008. En esta fase se realizó un muestreo diario del agua.

FASE 2

Se llevó a cabo durante el mes de Marzo de 2009. En esta fase se realizó el muestreo con una frecuencia reducida, fue una etapa de verificación, ya que después de la fase 1 las etapas del proceso de tratamiento se encontraban bajo control.

FASE 3

Se llevó a cabo durante los meses Agosto de 2009 y Septiembre de 2009. En esta fase se realizó una revisión exhaustiva del proceso de purificación, mediante la realización de muestreos diarios para establecer la reproducibilidad del sistema y confirmación de la calidad del producto que se viene presentando desde octubre de 2008.

Para la recolección de muestras de agua se utilizaron frascos de plástico estériles con capacidad de 100ml (para recuento mesófilos, hongos y patógenos) y 100 ml (para determinación pH). El frasco estéril fue llenado hasta su capacidad y tapado inmediatamente con las debidas medidas de bioseguridad para la toma de esta.

Dado que la cantidad de bacterias recuperables en una muestra pueden cambiar positiva o negativamente con el transcurso del tiempo después de la recolección, las pruebas microbiológicas y de pH se realizaron tan pronto como se recolectaron las muestras en la fase 3.

5.3 ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DEL AGUA

Se tomaron 100ml de muestra, a partir de los cuales se determinó el pH mediante un pH-metro (SympHony VWR cat # 248481-A01) previamente calibrado con soluciones buffer pH 7 (VWR cat # BDH5052) y pH 10 (VWR cat # BDH5078).

Se verificaron los parámetros de olor, color y aspecto del producto mediante un test de ácido peracético provisto y realizado por la empresa que llevo a cabo la instalación del sistema de purificación.

La temperatura y resistividad fueron verificadas cada muestreo mediante un dispositivo electrónico ubicado al finalizar el proceso de purificación.

Los datos de presión y flujo de agua registrados en unidades de psi y gpm fueron verificados en cada muestreo.

5.4 DETERMINACIÓN DE MESÓFILOS, MOHOS Y LEVADURAS

Para los análisis de mesófilos y mohos y levaduras de forma individual se siguió el procedimiento de filtración por membrana sugerido por descrito por Palma et al., 1999. Se pasó una solución buffer por un filtro de celulosa y seguidamente 100ml de agua con ayuda de una bomba de vacío (Coleparmer model # 2-79200-00). Posteriormente con pinzas estériles se transfirió el filtro a cajas de petri con medio PC (VWR cat. # EM1.01621.0500) y PDA (VWR cat. # EM1.10130.0500). Las cajas fueron incubadas a 35°C +/-2 por 24 – 48 horas para determinación de mesófilos, y de 20°C +/- 2 por 5 días para mohos y levaduras.

En el anexo 7 se puede observar el diagrama de flujo del procedimiento experimental para recuento de mesófilos, mohos y levaduras.

5.5 DETERMINACIÓN DE PATÓGENOS

Para el análisis de patógenos se siguió la metodología sugerida por el Instituto de Tecnología ORT, 2009 y la USP XXXII. Para el análisis, se tomaron 10ml de muestra para inocular en 90ml de caldo TSB (Trypticase Soya) para pre-enriquecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aureginosa* y otros 10ml en 90ml de caldo LB (Lactosa broth) para pre-enriquecimiento de *Escherichia coli* y *Salmonella* sp, seguidamente se llevaron a incubar a 35°C +/-2 durante 24 horas. Cumplido el tiempo se

realizó una siembra por aislamiento en medios específicos y diferenciales como se muestra en la Tabla 1.

TABLA 1. Medios específicos y diferenciales para patógenos analizados.

MEDIO DE CULTIVO	VWR CATALOGO #	MICROORGANISMO
MacConkey	EM 1.05465.0506	<i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella sp.</i>
Levine EMB	1.01342.0500	<i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella sp.</i>
Hektoen	EM 1.11681.0500	<i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella sp.</i>
XLD	EM 1.05287.0500	<i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella sp.</i>
Cetrimide	EM 1.05284.0500	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
Vogel Johnson	90003 – 520	<i>Staphylococcus aureus</i>

En el anexo 8 se puede observar diagrama de flujo del procedimiento experimental para determinación de patógenos.

5.6 PLAN DE VALIDACIÓN

La metodología empleada para la validación concurrente se baso en el procedimiento descrito por la USP XXXII (Anexo 9).

(1) Se establecieron normas para los atributos de calidad del agua terminada; (2) Se definieron las operaciones unitarias adecuadas y sus parámetros operativos para lograr los atributos de calidad deseados a partir del agua fuente disponible; (3) se desarrolló una etapa de clasificación de instalación (CI) que consistió en calibrar los instrumentos, realizar las inspecciones para verificar que los planos ilustran exactamente la configuración final del sistema de agua y, cuando fuera necesario, realizar pruebas especiales para comprobar que la instalación cumple con los

requisitos del diseño; (4) se desarrolló una etapa de calificación operativa (CO) que consistió en pruebas e inspecciones para verificar que el equipo, el sistema de alarmas y los controles operan en forma confiable y que se han establecido niveles de alerta y acción; y (5) se desarrolló una etapa de calificación prospectiva del funcionamiento del sistema (CF) para confirmar que los intervalos operativos de los parámetros críticos del proceso son apropiados (durante esta fase de validación, se establecieron los niveles de alerta y acción para los atributos clave de calidad; (6) se garantizó la adecuación de los procedimientos continuos de control, por ejemplo, la frecuencia de la higienización ;(7) se proporcionó un programa de mantenimiento de validación (también denominado ciclo de validación continua) que incluye un mecanismo para controlar los cambios en el sistema de agua, estableciéndose un mantenimiento preventivo programado que incluyó recalibración de los instrumentos (asimismo, el mantenimiento de la validación incluyó un programa de seguimiento y un programa de acción correctiva); (8) se estableció un programa de revisión periódica del funcionamiento del sistema y su recalificación; y (9) finalmente se completaron los protocolos y documentación de los pasos 1 y 8 (USP, 2008).

No se realizó una calificación de diseño debido a que el sistema de tratamiento de agua ya se encontraba implementado en la compañía nutracéutica.

5.6.1 CONTROL DE EQUIPOS

Se verificó la documentación de mantenimiento y calibración de equipos y se llevó el registro del uso de cada uno de los equipos utilizados en el estudio de validación, mediante utilización de formatos de registro establecidos en la empresa manufacturera de nutracéuticos.

5.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis de datos de pH obtenidos durante la etapa 3 se utilizó el procedimiento descrito por Sánchez, I., 2001, que empleo gráficas de control para el análisis de estos y una posterior determinación de la capacidad de proceso. Todos los datos fueron recopilados y documentados.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 ESPECIFICACIONES DEL AGUA

- Parámetros físicos:
 - Aspecto: Transparente
 - Color: Incoloro
 - Olor: Inodoro
- Parámetros químicos:
 - pH entre 5,0 - 7,0 a $20 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$
 - Conductividad a $T = 25^{\circ}\text{C} \leq 1,3 \mu\text{S/cm}$
 - < 0,2 ppm de cloro residual.
- Parámetros microbiológicos:
 - Recuento total de bacterias mesófilas: < 100 UFC/ mL
 - Patógenos: Ausencia en 10 mL. (USP, 2008).

6.2 MEDIDAS DE CONTROL

Las medidas de control a tener en cuenta para los equipos constituyentes del sistema de purificación de agua se muestran en la tabla 2.

TABLA 2. Medidas de control del sistema de purificación de agua.

EQUIPO	MEDIDA DE CONTROL
Carbón activado	Monitoreo de las velocidades de flujo y presiones diferenciales. Higienización. Lavado a contracorriente Pruebas de capacidad de adsorción. Reemplazo frecuente del lecho de carbono (USP, 2008).
Ablandadores	Recirculación de agua durante periodos de escasos

	<p>usos de agua. Higienización periódica. Uso de dispositivos de control microbiano (por ejemplo, Luz UV y cloro). Seguimiento químico de los efluentes (por ejemplo iones de dureza y posibilidad de amonio). Filtración posterior en el sistema para eliminar escamas de resina. (USP, 2008).</p>
Desionización	<p>Circuitos de recirculación. Control antimicrobiano del efluente mediante luz UV Seguimiento de la conductividad. Seguimiento microbiano. Regeneración frecuente para reducir al mínimo y controlar el crecimiento de microorganismos. Uso de un tamaño adecuado para obtener un flujo de agua y un tiempo de contacto adecuado. Uso de temperaturas elevadas. (USP, 2008).</p>
Filtros de retención microbiana.	<p>Muestreo del agua en ubicaciones en el sistema anteriores a los filtros para un control microbiológico. Empleo de lámparas UV en línea antes de los filtros para inactivar a los microorganismos. (USP, 2008).</p>
Luz Ultravioleta	<p>Inspecciones regulares o alarmas de emisión. Limpieza y secado regular del manguito de la lámpara UV. Reemplazo regular de la lámpara (aproximadamente cada año). (USP, 2008).</p>
Sistemas de distribución	<p>El agua que sale del sistema de distribución no debe retornar al sistema sin pasar antes a través de todo o parte del conjunto de purificación. Higienización periódica. (USP, 2008).</p>

6.3 CALIFICACIÓN DE INSTALACIÓN

Objetivo: Verificar que todos los equipos del sistema de purificación de agua estén en conformidad con los planos e información escrita proporcionada por el fabricante.

Alcance: Deberá efectuarse en el momento de la instalación, modificación o cambio de ubicación.

Responsabilidad: La persona que supervisa la instalación efectuará la certificación y registrará los datos.

El departamento de Garantía de la calidad examinará y aprobará el protocolo e informe de certificación de instalación.

6.3.1 CARACTERISTICAS EQUIPOS

6.3.1.1 FILTRO 5 μm de tamaño de poro

El filtro de 5 μm esta instalado después del medidor de flujo de agua proveniente de la ciudad.

Los datos del filtro son:

Material de filtración: membrana polisulfona

Presión máxima: 100psi.

Material del tanque: Polipropileno

Verificación: Conforme

Las verificaciones realizadas se encuentran en la tabla 3.

TABLA 3. Verificaciones de filtro 5 μm de tamaño de poro.

VERIFICACION	RESULTADO
Anclaje del filtro	Conforme
Estado de la carcasa	Conforme
Estado del filtro	Conforme
Estado de la empaquetadura y pernos de la tapa (PVC)	Conforme

Estado de la línea de ingreso de agua	Conforme
Estado de la línea de salida de agua	Conforme
Estado de los manómetros	Conforme

6.3.1.2 TANQUE DE CARBON ACTIVADO

El tanque de carbón activado está instalado después del filtro de 5µm de tamaño de poro y antes de los tanques de lecho mixto.

Los datos del filtro son:

Material de filtración: carbón activado.

Material del tanque: hierro recubierto externamente con pintura epóxica e internamente con fibra de vidrio

Dimensiones: 14" de diámetro x 50" de altura.

Capacidad: 3.6 ft³ (10 gpm)

Verificación: conforme.

Las verificaciones realizadas se encuentran en la tabla 4.

TABLA 4. Verificaciones de tanque de carbón activado.

VERIFICACION	RESULTADO
Anclaje del filtro	Conforme
Estado de la resina	Conforme
Estado de la empaquetadura y pernos de la tapa (PVC)	Conforme
Estado de la línea de ingreso de agua (PVC)	Conforme
Estado de la línea de salida de agua (PVC)	Conforme
Volumen de carbón	Conforme

6.3.1.3 LECHO MIXTO N°1

El tanque está ubicado después del filtro de carbón.

Los datos son:

Material del tanque: fibra de vidrio

Marca: Siemens

Capacidad: 3.6 ft³ (10gpm).

Dimensiones: 14" de diámetro x 50" de altura.

Verificación: conforme

Las verificaciones realizadas se encuentran en la tabla 5.

TABLA 5. Verificaciones de tanque de lecho mixto #1.

VERIFICACION	RESULTADO
Estado de la resina	Conforme
Estado de la empaquetadura y pernos de la tapa (PVC)	Conforme
Estado de la línea de ingreso de agua (PVC)	Conforme
Estado de la línea de salida de agua (PVC)	Conforme

6.3.1.4 LECHO MIXTO N°2

Esta ubicado después de el tanque de lecho mixto N°1.

Los datos son:

Material del tanque: fibra de vidrio

Marca: Siemens

Capacidad: 3.6ft³ (10GPM).

Verificación: conforme

Las verificaciones realizadas se encuentran en la tabla 6.

TABLA 6. Verificaciones de tanque de lecho mixto #2.

VERIFICACION	RESULTADO
Estado de la resina	Conforme
Estado de la empaquetadura y pernos de la tapa (PVC)	Conforme
Estado de la línea de ingreso de agua (PVC)	Conforme
Estado de la línea de salida de agua (PVC)	Conforme

6.3.1.5 ELECTROBOMBA DE RECIRCULACIÓN

Su finalidad es impulsar el agua del tanque de deionización #2 hacia el filtro de 0.2 micras y mantener el agua en constante circulación para evitar la formación biopelículas al interior de la red de distribución y de los tanques (Medina *et al.*, 2003).

Marca: GRUNDFOS

Modelo: C4H514562 P10818

Verificación: Conforme.

Las verificaciones realizadas se encuentran en la tabla 7.

TABLA 7. Verificaciones de la electrobomba

VERIFICACIÓN	RESULTADO
Anclaje bomba	Conforme
Estado de la válvula de pie	Conforme
Estado del interruptor	Conforme
Estado de la tubería de Descarga (Acero inoxidable)	Conforme
Estado de la válvula check	Conforme
Instalación eléctrica	Conforme

6.3.1.6 FILTRO 0.2µm de tamaño de poro

El filtro esta instalado después de la electrobomba.

Los datos del filtro son:

Material de filtración: membrana polisulfona

Presión máxima: 100psi.

Material del tanque: Polipropileno

Verificación: Conforme

Las verificaciones realizadas se encuentran en la tabla 8.

TABLA 8. Verificaciones del filtro de 0,2µm de tamaño de poro.

VERIFICACION	RESULTADO
Anclaje del filtro	Conforme
Estado de la carcasa	Conforme
Estado de la empaquetadura y pernos de la tapa (PVC)	Conforme
Estado de la línea de ingreso de agua (PVC)	Conforme
Estado de la línea de salida de agua (PVC)	Conforme
Estado de los manómetros	Conforme

6.3.1.7 EQUIPO UV.

Instalado después de el filtro de 0.2 µm.

Los datos del equipo son:

Longitud de onda: 254nm.

Marca: Aquafine.

Verificación: Conforme

Las verificaciones realizadas se encuentran en la tabla 9.

TABLA 9. Verificaciones del equipo de luz UV.

VERIFICACION	RESULTADO
Estado material equipo (acero inoxidable)	Conforme
Estado de las lámparas UV	Conforme
Estado de los indicadores de correcto funcionamiento del equipo.	Conforme
Estado del sensor óptico UV.	Conforme
Estado lector resistividad y temperatura.	Conforme

6.3.1.8 LECHO MIXTO N°3 O POLISHER

Esta ubicado después de el tanque de lecho mixto N°1.

Los datos son:

Material del tanque: fibra de vidrio

Marca: Siemens

Capacidad: 3.6ft³ (10gpm).

Verificación: conforme

Las verificaciones realizadas se encuentran en la tabla 10.

TABLA 10. Verificaciones del tanque de lecho mixto # 3 o polisher.

VERIFICACION	RESULTADO
Estado de la resina	Conforme
Estado de la empaquetadura y pernos de la tapa (PVC).	Conforme
Estado de la línea de ingreso de agua (PVC).	Conforme
Estado de la línea de salida de agua (PVC).	Conforme

6.3.1.9 FILTRO 0.1µm de tamaño de poro

Instalado después del equipo UV.

Los datos del filtro son:

Material de filtración: membrana polisulfona

Presión máxima: 100psi.

Material del tanque: Polipropileno

Verificación: Conforme

Las verificaciones realizadas se encuentran en la tabla 11.

TABLA 11. Verificaciones del filtro de 0,1µm de tamaño de poro.

VERIFICACION	RESULTADO
Anclaje del filtro.	Conforme
Estado de la carcaza.	Conforme
Estado de la empaquetadura y pernos de la tapa PVC).	Conforme
Estado de la línea de ingreso de agua (PVC).	Conforme
Estado de la línea de salida de agua (PVC).	Conforme
Estado de los manómetros.	Conforme

6.3.1.10 MATERIALES EN CONTACTO CON EL PRODUCTO

Las verificaciones realizadas se encuentran en la tabla 12.

TABLA 12. Verificaciones de materiales en contacto con el agua.

VERIFICACIÓN	RESULTADOS
Tuberías de distribución (PVC)	Conforme
Válvulas	Conforme
Juntas de tapas, de válvulas, tanques (acero inoxidable)	Conforme

6.3.1.11 INSTRUMENTACIÓN

Manómetros

Se usan para medir la presión

Rango: 0 – 100 PSI

Verificación: Conforme

pH-metro

Se usa para medir el pH del producto (agua) en los puntos de uso.

Fabricante: SympHony.

Modelo: 1242000 C00805

Rango: 0,0 – 14,0

Verificación: conforme.

Localización: laboratorio análisis físico – químico.

Medidor de temperatura y resistividad

Fabricante: Aquafine

Rango temperatura: -10 – 140°C

Rango resistividad: 1.0MΩ-cm - 50.0MΩ-cm.

Verificación: conforme.

Localización: Se encuentra después del filtro de 0.2µm.

El sistema se encuentra correctamente instalado y opera adecuadamente, según recomendaciones de fabricantes y requerimientos nacionales e internacionales actuales.

6.4 CALIFICACIÓN OPERATIVA (CO)

Objetivo: Verificar mediante pruebas e inspecciones que el equipo, el sistema de alarmas y los controles operan de forma confiable.

Alcance: Se realiza después de haber efectuado la calificación de la instalación.

Responsabilidad:

La persona encargada de operar el sistema/equipo efectuará la calificación y registrará los datos.

El supervisor verificará que los registros estén completos.

El departamento de garantía de calidad examinará y aprobará el protocolo y el informe de calificación operativa.

6.4.1 LIMITES OPERACIÓN

Los límites operacionales se muestran en la tabla 13.

TABLA 13. Límites operacionales

EQUIPO	RANGO OPERACIONAL
Manómetros	60psi – 80psi
% irradiación	$\geq 85\%$
pH-metro	5 – 7
Dispositivo de lectura temperatura y resistividad	Temperatura: $\leq 95^{\circ}\text{F}$ Resistividad: $>10\text{M}\Omega\text{-cm}$
Flujo de agua	5 – 10 gpm

6.4.2 MANTENIMIENTO DE EQUIPOS

En la tabla 14 se muestra la verificación del mantenimiento de los equipos que componen el sistema de purificación de agua.

TABLA 14. Verificación mantenimiento de equipos.

EQUIPO/ INSTRUMENTO	RESULTADO	OBSERVACIÓN
Electrobomba	Conforme	Verificación semanal
Tablero de control para temperatura y resistividad	Conforme	Verificación semanal
Manómetros de filtro 5 μ m	Conforme	Verificación semanal
Manómetro de filtro 0.2 μ m	Conforme	Verificación semanal
Manómetros de filtro 0.1 μ m	Conforme	Verificación semanal
Tablero de control para % de irradiación UV	Conforme	Verificación semanal.
Medidor de flujo de agua de entrada (galones)	Conforme	Verificación semanal
Manómetro después de electrobomba	Conforme	Verificación semanal
Equipo ultravioleta	Conforme	Verificación semanal.
pH-metro	Conforme	Verificación diaria.
Calentador	Conforme	Verificación semanal

En la tabla 15 se muestra la periodicidad con la que deben ser cambiados los filtros.

TABLA 15. Cambio de filtros

CAMBIO DE FILTROS	
	Cuando se necesite y/o máximo 180 días

Filtro de carbón	de haber sido cambiado.
Filtro lecho mixto #1	Cuando se necesite y/o máximo 180 días de haber sido cambiado.
Filtro de lecho mixto #2	Cuando se necesite y/o máximo 180 días de haber sido cambiado.
Filtro polisher	Cuando se necesite y/o máximo 180 días de haber sido cambiado.
Filtro de partículas de 5µm	Cuando se necesite y/o máximo 180 días de haber sido cambiado. (Puede ser cambiado cada vez que el lecho mixto #1 sea cambiado)
Filtro de 0.2µm de tamaño de poro	En cada sanitización y/o cada 360 días
Filtro de 0.1µm de tamaño de poro	En cada sanitización y/o cada 360 días

6.4.3 CALIBRACIÓN

En la tabla 16 se muestra la periodicidad con la que deben ser calibrados los equipos que componen el sistema de purificación de agua.

TABLA 16. Calibración de equipos

EQUIPO	TIEMPO
Equipo UV	Anualmente
Electrobomba	Cuando sea necesario
Manómetros	Cuando sea necesario
Medidor de flujo	Cuando sea necesario
Medidor resistencia y temperatura	Anualmente
Sensor resistividad (luz roja) entre el tanque de	

carbón activado y el lecho mixto # 1	Cuando sea necesario
Calentador	Anualmente
pH-metro	Diariamente

6.4.4 SANITIZACIÓN Y LIMPIEZA

El procedimiento que se emplea para la sanitización del sistema es:

(POE de sanitización del sistema de purificación de agua (M-1009))

- a. Desconectar todo el sistema de la corriente eléctrica.
- b. Cerrar la válvula de entrada de agua de la ciudad.
- c. Quitar la presión al sistema abriendo salidas de agua.
- d. Desconectar las mangueras de entrada y salida del filtro de carbón y conectarlas entre si.
- e. Desconectar las mangueras de entrada y salida del lecho mixto #1 y conectarlas entre sí.
- f. Desconectar las mangueras de entrada y salida del lecho mixto # 2 y conectarlas entre sí.
- g. Desconectar las mangueras de entrada y salida del filtro polisher y conectarlas entre si.
- h. Quitar el filtro de 5µm de tamaño de poro y cambiarlo,
- i. Adicionar el sanitizante (MINNCARE COLD STERILANT Cat. No. 78325-150) dentro del filtro hasta llenar $\frac{3}{4}$ aproximadamente de este.
- j. Alistar los Test Strips.
- k. Hacer un informe del lote y fecha de expiración para el liquido sanitizante y los test strips.

- l. Quitar el filtro de 0.2µm de tamaño de poro y cambiarlo.
- m. Quitar el filtro de 0.1µm de tamaño de poro y cambiarlo
- n. Abrir lentamente la válvula de entrada de la ciudad.
- o. Tomar el test en cada punto de salida con el test de ácido peracético e informar por escrito el color de la prueba (el nivel de concentración de la solución es del 1%). Ver indicaciones del fabricante.
- p. Cerrar las salidas de agua.
- q. Conectar la bomba y dejar circular la solución en el sistema aproximadamente 2 ½ horas.
- r. Tomar muestras con el test de ácido peracético en todos los puntos.
- s. Generar una tabla con los siguientes datos: No de cuarto, No De punto, concentración, hora de toma del test, nombre de la persona que toma el test.
- t. Dejar salir agua por 20 minutos.
- u. Tomar muestras (una o dos muestras) con las tiras de pruebas residuales siguiendo las instrucciones del fabricante.
- v. Cada 20 minutos tomar muestras y seguir dejando salir agua hasta que el color en la muestra sea blanco, lo que indicará que hay 0ppm del sanitizante circulando en el sistema.
- w. Se procede a cerrar las tomas de agua y reconectar todo el sistema normalmente.
- x. Primero se conectan los dos lechos mixtos.
- y. Luego se conecta el filtro de carbón, se revisan los ajustes y después se conecta el polisher (tanque de lecho mixto # 3).
- z. Se abre lentamente el paso de agua de la ciudad.
- aa. Se abren lentamente las válvulas que están cerca a los manómetros.
- bb. Conectar todo el sistema a la electricidad.

cc. Dejar abierta una salida de agua.

dd. Verificar la resistividad hasta que normalice en un rango de 10 a 15MΩ.

Para la validación y operación satisfactoria de un sistema de purificación de agua para uso nutracéutico, es fundamental el trabajo conjunto del fabricante y los diferentes sectores del usuario, como son los departamentos de control de calidad, producción e ingeniería y/o mantenimiento. Solo así se podrá garantizar el suministro de una correcta documentación y de un testeo apropiado para las necesidades de la industria farmacéutica.

6.5 CALIFICACIÓN FUNCIONAL (CF)

Objetivo: Demostrar que el sistema/ equipo opera según lo previsto por el programa elaborado, registrando toda la información y datos pertinentes.

Demostrar que el sistema cumple con las especificaciones establecidas tanto en condiciones normales como en condiciones de estrés.

Alcance: Se efectuará después de haber realizado y aprobado las certificaciones de instalación y operativa.

Deberá efectuarse después de la instalación, modificación o cambio de ubicación.

Responsabilidad: La persona encargada de operar el sistema / equipo realizará la calificación y registrará los datos.

El supervisor vigilará el estudio, verificará que los registros estén completos, redactará el informe de desviaciones y el informe de calificación operativa.

El departamento de garantía de calidad examinará y aprobará el protocolo y el informe de calificación funcional.

6.5.1 Verificación de SOP (Protocolos operativos Estándar)

En la tabla 17 se muestran los SOP necesarios para el correcto funcionamiento del sistema.

TABLA 17. S.O.P requeridos para el funcionamiento del sistema de purificación.

PROCEDIMIENTO	S.O.P	ESTADO
Funcionamiento y puesta en marcha del sistema	M – 1009	IMPLEMENTADO
Mantenimiento (cambio de filtros, sustitución de lámparas UV, etc)	MM – 137	IMPLEMENTADO CON MODIFICACIONES
Métodos analíticos (Determinación mesófilos, hongos y patógenos)	STP 022	IMPLEMENTADO
Muestreo	STP 026	IMPLEMENTADO
Limpieza y sanitización	MM – 137	IMPLEMENTADO CON MODIFICACIONES
Calibración de instrumentos de medida	MM – 137	IMPLEMENTADO CON MODIFICACIONES
Procedimiento de control de incidencias	MM – 137	IMPLEMENTADO CON MODIFICACIONES
Investigación de resultados microbiológicos fuera de especificación	Q – 164	IMPLEMENTADO

Todos los S.O.P necesarios para el correcto funcionamiento del sistema de purificación se encontraban implementados, el MM – 137 fue complementado durante este proyecto en la descripción y esquematización del proceso de purificación, periodos de calibración, cambios de filtros y plan de monitoreo del sistema.

6.6 FASE CONCURRENTE

6.6.1 REPRODUCIBILIDAD DEL SISTEMA

6.6.1.1 DETERMINACIÓN pH.

La determinación de pH desde Octubre de 2008 y Septiembre de 2009 en las muestras de agua analizadas se muestran en las figuras 5 y 6, que corresponden a las tres fases mencionadas puntos atrás.

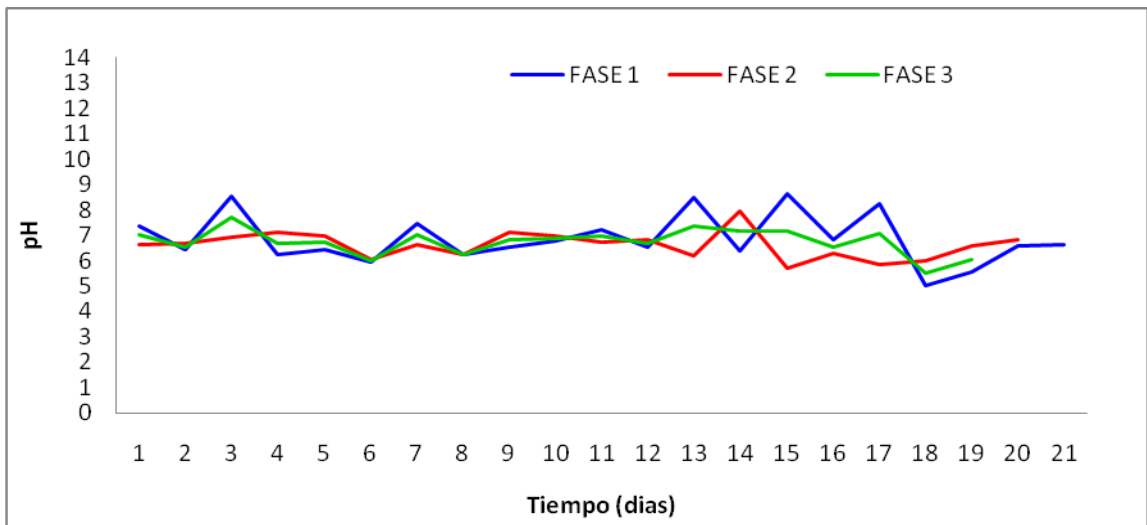


FIGURA 5. Medición pH en fase 1, 2 y 3.

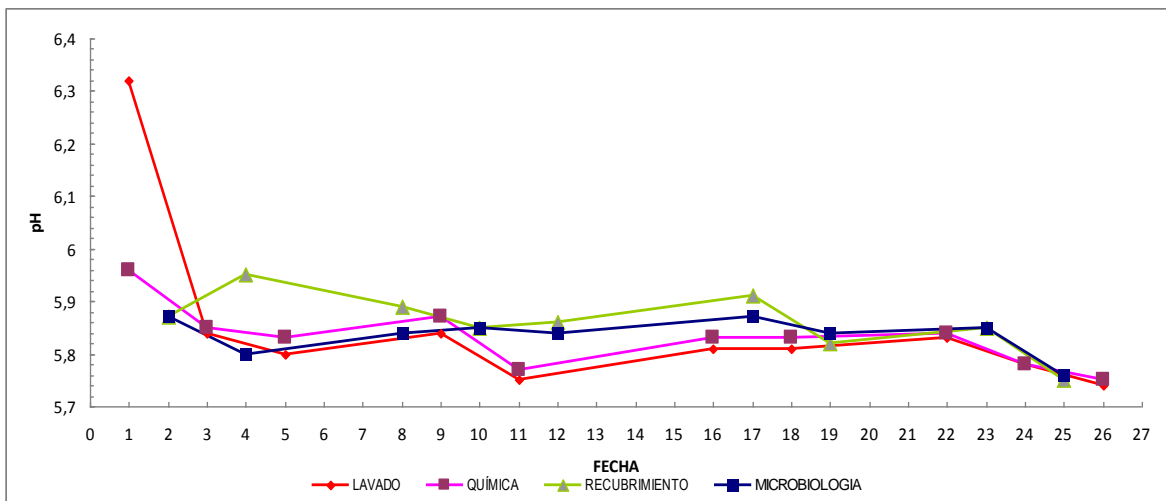


FIGURA 6. Determinación pH durante Agosto de 2009 – Septiembre de 2009 (Fase3)

El rango establecido para el pH es de 5 a 7. en la figura 5 se nota que en el muestreo de octubre de 2008, 6 de las 21 lecturas se encontraron fuera de este rango, de igual manera en el muestreo de marzo de 2009, en 3 oportunidades el valor obtenido de pH se encontró fuera de este. tambien se puede observar que incluso aquellos datos que se encontraban de 5 a 7 presentaron mucha dispersión entre los mismos.

Se entiende que si el agua cumple con el valor de conductividad establecido, indiscutiblemente deberá cumplir con los valores requeridos de pH, por esto se compararon estos datos con las verificaciones del funcionamiento del sistema durante el mes de Octubre de 2008 y Marzo de 2009 (ver Anexo 9) y se observó que la conductividad cumplió con las especificaciones del agua ya que siempre se mantuvo por debajo de 1,3 $\mu\text{s}/\text{cm}$.

La conducta errática del pH pudo deberse a que la muestra no se leyó inmediatamente después de ser tomada; al dejarse la muestra en reposo por mucho tiempo, el dióxido de carbono contenido pasó a estado gaseoso, alcalinizando la muestra; por otro lado en el momento de la toma de muestra puede que el dióxido de carbono presente en la muestra (ya sea por un elevado flujo de personas o porque la muestra quedó mal cerrada) se haya absorbido generando una acidificación de la muestra (ELGALABWATER, 2002).

En el muestreo de Agosto de 2009 a Septiembre de 2009 (figura 5) se observa que los datos obtenidos en este periodo de tiempo son muy semejantes, encontrándose en un rango de 5.75 a 5.96, los cuales se ubican dentro de las especificaciones establecidas (USP, 2008; FDA,2008). En la figuras 5 y de forma mas específica en la figura 6, se observan algunas fluctuaciones del pH en el mismo dia en diferentes puntos de uso, las cuales pudieron deberse a la absorción de una pequeña parte de dióxido de

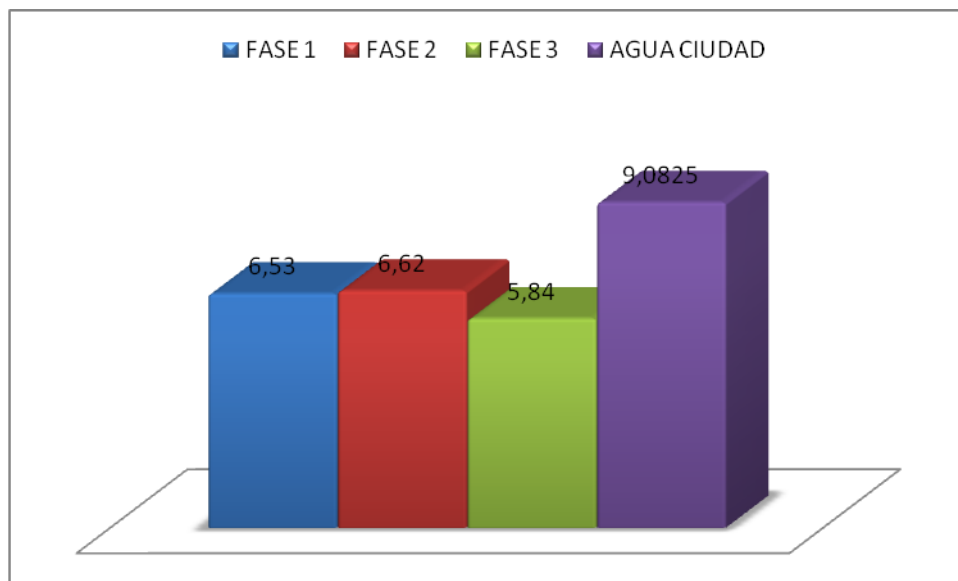
carbono en la atmósfera en los cuartos que presentan gran flujo de personal como lo es el laboratorio de química y el cuarto de lavado.

La variación en el pH de la fase 3 es tan mínima que se considera despreciable para efectos de este estudio.

En la figura 7 se muestra el promedio de los datos de pH de cada fase de muestreo y del efluente, en este caso agua de la ciudad de Davie, Fl.

Debido a que los datos de las 2 primeras fases son muy distantes, no fue posible hacer un promedio, por tanto se realizó un análisis de tendencias que se encuentra en el Anexo 10.

FIGURA 7. Tendencia de comportamiento de pH



En la figura 7 se pueden comparar los datos de las tres fases con el agua de la ciudad, por referencias bibliográficas se sabe que el agua de la ciudad viene con un contenido de sales, minerales y sólidos disueltos (Ver anexo 13), que aunque son niveles bajos para cumplir con las especificaciones de agua potable, para el tipo de agua purificada deben ser removidos de esta o

en un menor rango, a partir de esto se puede comprobar que los equipos que componen el sistema de purificación están trabajando de forma apropiada y a su vez, que el plan de mantenimiento del sistema esta siendo llevado a cabo correctamente.

6.6.1.2 DETERMINACIÓN DE PATÓGENOS

La determinación de patógenos desde Octubre de 2008 y Septiembre de 2009 en las muestras de agua analizadas se muestran en las tabla 18 (Ver anexo 9) que corresponden a las tres fases mencionadas anteriormente.

TABLA 18. Determinación de patógenos durante el periodo de validación.

<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>Salmonella sp.</i>	<i>P.aureginosa</i>
Ausencia en 10ml	Ausencia en 10ml	Ausencia en 10ml	Ausencia en 10ml

En la tabla 18 se observa que durante el periodo de muestreo nunca se presentó crecimiento de patógenos, lo que demuestra que el sistema de purificación de agua opera adecuadamente y el plan de mantenimiento del sistema establecido en la instalación del mismo es apropiado.

6.6.1.3 RECUENTO DE MESÓFILOS

El recuento de mesófilos desde Octubre de 2008 y Septiembre de 2009 en las muestras de agua analizadas se muestra en el anexo 9 que corresponden a las tres fases mencionadas puntos atrás.

En las tablas 19, 20 y 21 sólo se muestran los días en los que se presentó crecimiento de mesófilos.

TABLA 19. Recuento de mesófilos durante Octubre de 2008 (Fase 1).

F T	10/03/08	10/06/08	10/09/08	10/13/08	10/22/08	10/24/08
1'	1 UFC/100ml	1 UFC/100ml	0 UFC/100ml	1 UFC/100ml	1 UFC/100ml	2 UFC/100ml
2'	0 UFC/100ml	0 UFC/100ml	2 UFC/100ml	0 UFC/100ml	0 UFC/100ml	6 UFC/100ml

F: Fecha; T: Tiempo de corrida el agua para toma de muestra; UFC: Unidades Formadoras de colonia.

TABLA 20. Recuento de mesófilos durante Marzo de 2009 (fase 2)

F T	Marzo 26 de 2009
1'	0 UFC/100ml
2'	1 UFC/100ml

F: Fecha; T: Tiempo de corrida el agua para toma de muestra; UFC: Unidades Formadoras de colonia.

TABLA 21. Recuento de mesófilos durante Agosto de 2009 (Fase 3).

F T	26 de Agosto de 2009
1	1UFC/100ml
2	0UFC/100ml

F: Fecha; T: Tiempo de corrida el agua para toma de muestra; UFC: Unidades Formadoras de colonia.

Aunque en las tablas 19, 20 y 21 se observó crecimiento en 9 días correspondientes al año de muestreo, no se considera relevante debido a que las muestras no son consecutivas y la cantidad de unidades formadoras de colonias se encuentran dentro del rango emitido por la USP y FDA.

De igual forma estos resultados se podrían atribuir a que en el momento de toma de la muestra o durante su análisis pudiesen haber existido fallas en la técnica aséptica de la toma de muestra.

Sin embargo, se continúa observando y comprobando el correcto funcionamiento y mantenimiento del sistema de purificación de agua.

6.6.1.4 RECUENTO DE MOHOS Y LEVADURAS

El recuento de hongos desde Octubre de 2008 y Septiembre de 2009 en las muestras de agua analizadas se muestran en la tabla 22 (Ver anexo 9) que corresponden a las tres fases mencionadas puntos atrás.

TABLA 22. Recuento de mohos y levaduras durante en periodo de validación.

F T	OCTUBRE 13 DE 2008
1'	0 UFC/100 ml
2'	1 UFC/100 ml

F: Fecha; T: Tiempo de corrida el agua para toma de muestra; UFC: Unidades Formadoras de colonia.

La tabla 22 muestra que durante el año de muestreo, solo en una ocasión hubo crecimiento de 1UFC/100ml. Este resultado no es congruente con los

resultados restantes, por tanto, este crecimiento se podría atribuir fallas en la técnica aséptica durante la toma o análisis de la muestra.

6.6.1.5 VERIFICACIÓN DEL FUNCIONAMIENTO DEL SISTEMA

Se verificó que las presiones en los equipos del sistema de tratamiento: filtros de cuarzo, de carbón y pulidor, equipos desionizadores, equipos de luz UV y bomba recirculante se encuentran dentro de los especificaciones descritas por el fabricante.

Los datos registrados durante las tres fases demuestran que el sistema operó bajo los parámetros establecidos, demostrando así el correcto seguimiento del plan de mantenimiento del sistema (anexo 12).

6.6.1.6 PRUEBAS BAJO CONDICIONES DE ESTRÉS

En la tabla 23 se muestran los resultados obtenidos luego de someter el sistema de purificación a condiciones adversas.

TABLA 23. Sistema de purificación bajo condiciones adversas

FECHA	OCURRENCIA	RESULTADOS
09/14/2009	Corte de fluido eléctrico por 8 horas (No bomba de presión, no indicador conductividad, no indicador r y no luz UV)	El flujo se mantiene en Recuento mesófilos 0 UFC/100ml Recuento hongos: 0 UFC/100ml Ausencia de <i>Salmonella</i> sp. en 10ml Ausencia de <i>E.coli</i> en 10ml Ausencia de <i>P.aureginosa</i> en 10ml. Ausencia de <i>S.aureus</i> en 10ml

		pH: 5.8 Conductividad: 0.1µs/cm
09/15/2009	Cambio de filtro de carbono. Cambio de filtro de partículas 5 µm de tamaño de poro.	Recuento mesófilos 0 UFC/ml Recuento hongos: 0 UFC/ml Ausencia de <i>P.aureginosa</i> en 10ml. Ausencia de <i>S.aureus</i> en 10ml Ausencia de <i>Salmonella</i> sp. en 10ml Ausencia de <i>E.coli</i> en 10ml pH: 5.8 Conductividad: 0.1µs/cm
09/16/2009	Corte de fluido eléctrico por 24 horas	El flujo se mantiene en Recuento mesófilos 0 UFC/ml Recuento hongos: 0 UFC/ml Ausencia de <i>P.aureginosa</i> en 10ml. Ausencia de <i>S.aureus</i> en 10ml Ausencia de <i>Salmonella</i> sp. en 10ml Ausencia de <i>E.coli</i> en 10ml pH: 5.8 Conductividad: 0.1µs/cm

Sometiendo el sistema de tratamiento de agua bajo condiciones adversas de operación, la calidad del agua se mantuvo dentro de las especificaciones, lo cual demuestra que el sistema se encuentra bajo control.

Nota: Los valores físico-químicos y microbiológicos del agua se encontraban dentro de las especificaciones antes de realizar los cambios.

6.6.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO pH

6.6.2.1 GRÁFICAS DE CONTROL

Es una técnica de control de procesos en línea, que se utiliza para detectar cambios en la tendencia del proceso a fin de que se pueda investigar y tomar acciones correctivas antes y durante de la producción (Sánchez, I. 2001). Si todos los valores ocurren dentro de los límites de control, sin ninguna tendencia especial, se dice que el proceso está en estado controlado.

La calidad del producto manufacturado siempre esta expuesta a desviaciones. Estas desviaciones tienen causas que pueden ser:

- Causas debidas al azar

Estas desviaciones son inevitables en el proceso, aún si la operación se realiza utilizando materia prima y métodos estandarizados (Sánchez, I. 2001).

- Causas asignables

La desviación debido a causas asignables significa que hay factores significativos que pueden ser investigados (Sánchez, I. 2001). Es evitable y siempre debe tomarse en cuenta.

Cuando los puntos se ubican por fuera de los límites de control o muestran una tendencia particular, decimos que el proceso está fuera de control y esto equivale a decir, existen desviaciones por causas asignables (Sánchez, 2001). Para controlar un proceso se requiere poder predecir el resultado dentro de un margen de variación debida al azar.

Por lo anterior, en este trabajo se emplearon gráficas de control X-R (Ver anexo 12) para la verificación de la calidad del producto con respecto al pH. Solo se tomaron los datos de la fase 3 debido a que en las otras dos fases

los datos presentaban variaciones muy grandes aunque la mayoría de los datos se encontraran dentro del rango permisible.

La figura 8 muestra el rango operacional del pH durante la fase 3.

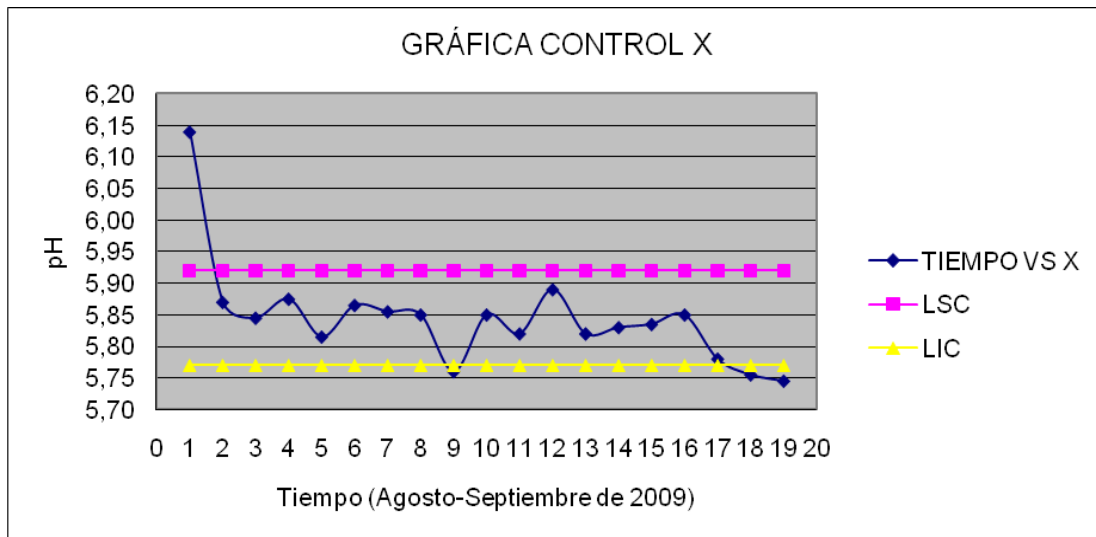


FIGURA 8. Gráfica de control de pH.

En la figura 8 se observa que los valores de pH obtenidos de las muestras de agua en los diferentes puntos de uso durante la tercera fase se encuentran dentro de los límites especificados.

Para el presente trabajo se utilizaron gráficas de control de valor continuo y de esta forma se pudo establecer el nivel de alerta correspondiente al pH.

6.6.2.2 CAPACIDAD DE PROCESO

A partir de esta técnica estadística, se analizó la variabilidad del proceso en relación con la especificación del producto correspondiente a pH.

A partir de la tabla 24 se comparó el resultado de la evaluación del proceso (Cp).

TABLA 24. Evaluación capacidad de proceso

Cp	EVALUACIÓN	PRONÓSTICO
$1.33 \leq Cp$	Satisfactorio	La capacidad del proceso satisface completamente las especificaciones (Medina <i>et al.</i> , 2003).
$1.00 \leq Cp < 1.33$	Adecuado	La capacidad del proceso no satisface completamente el proceso, debe continuar el control del proceso (Medina <i>et al.</i> , 2003).
$Cp < 1.00$	Inadecuado	La capacidad de proceso es inadecuada y se debe realizar mejoras (Medina <i>et al.</i> , 2003).

Al realizar los cálculos correspondientes (anexo 13) se obtuvo un Cp equivalente a 8.3, por tanto el proceso de tratamiento de purificación de agua tiene un desempeño satisfactorio para la prueba de pH durante la tercera fase de validación funcional.

6.6.3 NIVELES DE ALERTA ACCIÓN Y CRÍTICOS

Los niveles de monitoreo deben establecerse con base en la relación de la localización muestreada a la operación. Los niveles están basados en la necesidad de mantener un control microbiológico y químico adecuado para asegurar la calidad del agua (Lerin *et al.*, 2004).

El nivel de alerta se refiere al nivel de pH o microorganismos que muestra una desviación potencial a partir de las condiciones normales de operación. El hecho de exceder el límite de alerta no necesariamente implica la toma de medidas correctivas, pero por lo menos, se debe promover una investigación

de seguimiento documentada que pueda incluir modificaciones en el plan de muestreo (Arias, 2006).

Por otra parte un nivel de acción se refiere al nivel de pH cuando se sobre pasa en excesp, requiere un seguimiento inmediato y si es necesario, una acción correctiva. Los niveles de alerta están usualmente basados en información histórica obtenida de las operaciones de rutina del proceso en un ambiente controlado específico (Arias, 2006).

Finalmente el nivel crítico se refiere a un nivel en el cual va a afectar la calidad del agua y por tanto afectara los procedimientos que dependen de ella. El hecho de llegar a este nivel implica la toma de una acción correctiva inmediata, promoviendo una rigurosa investigación de seguimiento documentado (Arias, 2006)

6.6.3.1 pH

En la tabla 25 se muestran los niveles de alerta, de acción y críticos con respecto al pH.

TABLA 25. Niveles de alerta, acción y críticos para pH del agua.

RANGO ALERTA	RANGO DE ACCIÓN	LÍMITE CRÍTICO
(5.3 – 5.7) y (6.0 – 6.5)	(5.0 – 5.3) y (6.5 – 7.0)	(< 5.0) y (> 7.0)

A partir de las gráficas de control se determinó que el rango operacional se encuentra entre 5.7 y 6.0. En la tabla 25 se observan las especificaciones de los límites de alerta, acción y críticos.

6.6.3.2 MICROBIOLÓGICOS

Basado en las pautas de análisis sugeridas para las concentraciones y tipos de microorganismos que pueden estar contenidos en agua purificada, se establecieron parámetros críticos de control de calidad, como son la cantidad total de microorganismos mesófilos y la ausencia total de microorganismos patógenos.

En las tablas 26 y 27 se muestran los niveles de acción, alerta y críticos respecto al número de microorganismos mesófilos, mohos y levaduras.

TABLA 26. Niveles de alerta, acción y críticos para recuento de mesófilos

RANGO ALERTA	RANGO DE ACCIÓN	LÍMITE CRÍTICO
≤ 50 UFC/ml	50 UFC/ml – 100 UFC/ml	> 100 UFC/ml

TABLA 27. Niveles de alerta, acción y críticos para recuento de mohos y levaduras.

RANGO ALERTA	RANGO DE ACCIÓN	LÍMITE CRÍTICO
3 UFC/ml - 5 UFC/ml	6 UFC/ml – 9 UFC/ml	> 10 UFC/ml

6.6.4 MEDIDAS CORRECTIVAS

En la tabla 28 se muestran las acciones correctivas del sistema de purificación de agua.

TABLA 28. Acciones correctivas

PROBLEMA	POSIBLE CAUSA	ACCIÓN CORRECTIVA
Escapes de agua	Desgaste en los empaques o mangueras	Revisar empaques, mangueras y filtros propensos a rupturas. Si el ajustar o envolver dichas

del sistema	Piezas defectuosas en la cabecera de los tanques.	superficies no detiene la fuga de agua, contactar con servicio al cliente de la empresa proveedora del servicio, US Filter, para pedir una revisión técnica del sistema.
No se observa luz roja en el display que se encuentra en el lecho mixto # 1.	El indicador de luz esta desconectado o no hay salida de electricidad en dicho punto. El indicador de luz puede haberse quemado	Revisar si hay luz en el punto de conexión del indicador de luz. Cerrar la entrada de agua al sistema. Asegurese que la presión de agua se encuentre en un nivel cercano al ideal (la presión puede ajustarse a través de la válvula ubicada debajo de la cubierta del prefiltro, o a través del grifo), desatornille el bombillo. Este debe verse rojo cuando se expone al aire, si no, instale un bombillo Nuevo.
Los tanques se llenan antes de lo previsto	Cambio en el punto de uso de agua, el flujo o temperatura de la misma.	Revisar el punto de uso del agua, el flujo y temperatura de la misma, asegúrese que esta cumpla con las especificaciones del sistema. Medir los sólidos suspendidos

	Cambio en la calidad de agua que alimenta el sistema	totales en el agua que entra al sistema y compararlos con los del agua que originalmente ingreso al sistema, si estos son más elevados contacte con el departamento de soporte de la empresa proveedora del servicio, US Filter.
Baja calidad del efluente proveniente del lecho mixto.	<p>Cambio en los parámetros de flujo o temperatura del agua que entra al sistema.</p> <p>Crecimiento bacteriano en la resina.</p> <p>Intercambio de agua interno de un lecho a otro.</p>	<p>Revisar los parámetros de flujo y temperatura del agua y asegúrese que estos cumplan con las especificaciones del sistema.</p> <p>Si el sistema ha sido desconectado por un tiempo o no ha sido utilizado continuamente, es posible que se presente crecimiento bacteriano en la resina y otras superficies. Llame al departamento de soporte tecnico de US Filter para solicitar asistencia.</p> <p>Si esta experimentando baja calidad del agua proveniente del lecho mixto, y los parámetros del agua se han ajustado a las especificaciones, el problema</p>

		<p>puede deberse a fallas en los canales de transporte de agua internos. Contacte el departamento de soporte técnico de US Filter y solicite revisión y cambio de piezas defectuosas.</p>
<p>Baja presión o flujo en el efluente</p>	<p>Cambio en la presión o flujo del agua que alimenta el sistema.</p> <p>Perdida de la conexión entre mangueras o entre lechos.</p> <p>El flujo de agua en el prefiltro o post-filtro puede verse interrumpido, limitando la conducción del agua y provocando disminución en la</p>	<p>Revisar la presión y el flujo del agua que entra al sistema, asegúrese que cumpla con las especificaciones del sistema (es posible que el regulador de presión y flujo no este funcionando como debe). Contacte el departamento de soporte tecnico de US Filter y solicite asistencia.</p> <p>Llame al departamento de soporte técnico de US Filter y solicite asistencia.</p> <p>Verificar la presión del punto de entrada y salida del prefiltro y del post-filtro. Si la diferencia entre las medidas del punto de entrada y salida sobrepasa las</p>

	presión del efluente.	10psi, deberá reemplazar el filtro.
El pH del efluente del tanque DI es mayor o menor que lo normal	Los tanques pueden estar a punto de llenarse o el método de lectura del pH no es preciso.	El efluente del tanque DI puede presentar niveles de pH mas bajos cuando este esta a punto de llenarse. Los métodos de medida del pH no son siempre exactos.
El agua que sale del sistema presenta un olor extraño (olor a amoniac, pescado o alcohol)	Las elevadas temperaturas pueden causar que la resina interior se altere y provoque dicho olor	Llame al departamento de soporte tecnico de US Filter y solicite asistencia

(US Filter, 2000)

6.7 MANTENIMIENTO VALIDACIÓN

6.7.1 PLAN RUTINARIO CONTROL FISICOQUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO.

Verificar que haya presión de agua de la ciudad.

Chequear manómetros 1 y 2 del filtro de partículas de 5µm. El rango de la lectura debe estar entre 40 y 80 psi.

Chequear que la QC light este encendida.

Chequear manómetro 3 de la bomba, debe estar entre 40 y 80 psi.

Chequear manómetros 5 y 6 del filtro de bacterias de 0.2µm, debe estar entre 40 y 80 psi.

Chequear que los leds del sistema de luz UV estén encendidos.

Chequear los manómetros 6 y 7 del filtro de bacterias de 0.1µm, debe estar entre 40 y 80 psi.

Chequear en el display la resistividad, esta debe estar mayor a 10, la temperatura debe ser menor a 95°F.

Chequear la ventana que muestra la velocidad de flujo de agua en el sistema, debe estar entre 5 y 10 galones por minuto.

Realizar medición de pH de 2 puntos de uso mediante un pH-metro calibrado previamente.

Para la revisión del funcionamiento del sistema/ equipo de purificación de agua se seguirá empleando el mismo formato (Ver anexo 11).

Después de cada sanitización del sistema realizar el test para la determinación de COT (Carbono Orgánico Total), sólidos disueltos, mesófilos, patógenos y mohos y levaduras.

Determinar los parámetros de olor, color y aspecto del producto mediante un test de ácido peracético proveído por la empresa que llevo a cabo la instalación del sistema de purificación.

6.7.1.1 PLAN MICROBIOLÓGICO

Realizar un muestreo dos veces a la semana para determinar mesófilos, mohos y levaduras, y determinar la presencia o ausencia de microorganismos patógenos siguiendo el S.O.P Q – 164.

6.7.2 PLAN DE SANITIZACIÓN.

Se empleara el procedimiento descrito puntos atrás anualmente verificando las fechas de expiración de los test de acido peracetico y la solución empleada para la misma.

6.8 INFORME FINAL DE LA VALIDACION

SISTEMA DE TRATAMIENTO DE AGUA GRADO PURIFICADA

Tipo de validación: Concurrente

Realizada entre Octubre de 2008 y Septiembre de 2009

TABLA 29. Verificación de las etapas de la validación.

TIPO DE CALIFICACIÓN	FECHA	ESTADO
Calificación de instalación	Agosto de 2009	Conforme
Calificación operativa	Agosto - Septiembre de 2009	Conforme
Calificación funcional	Octubre de 2008 - Septiembre de 2009	Conforme

Estado de validación: Conforme.

Reporte distribuido a:

- Comité de Aseguramiento de la Calidad
- Dirección técnica
- Jefe de Mantenimiento

Aprobación del Departamento de Ingeniería y Mantenimiento Fecha:

Aprobación de Gerencia de Control de Calidad: Fecha:

Aprobación de Gerencia de Aseguramiento de la Calidad: Fecha: 11-17-09

7. CONCLUSIONES

Por medio de este trabajo se confirmó que el sistema de purificación de agua instalado en la empresa manufacturera de suplementos alimenticios, cumple con las especificaciones y las funciones necesarias para cumplir con el tipo de agua de grado purificada según la USP XXXII.

Una vez validado el sistema de producción de agua se ha asegurado la confiabilidad o capacidad del proceso. Pero esta confiabilidad está condicionada al riguroso cumplimiento de todos los programas y procedimientos de operación estandar (POE) implantados durante el desarrollo de la validación.

En la pruebas de control de calidad para el agua: cloro residual, pH, conductividad y microbiológicas se observa que con el adecuado cumplimiento y aplicación del programa regular de muestreo, el programa anual de mantenimiento y el programa de limpieza y sanitización, los resultados del agua grado purificada para estas pruebas se encuentran dentro de lo especificado.

Las pruebas realizadas a las muestras de agua en las etapas de tratamiento y las verificaciones de funcionamiento de los equipos del sistema de tratamiento de agua purificada, demuestran que los resultados cumplen en forma consistente y repetitiva las especificaciones establecidas para cada una de las pruebas de control de calidad y verificaciones de adecuado funcionamiento de los equipos; por lo tanto, el Sistema de purificación de agua se considera validado.

Se redactaron los Protocolos Operativos Estándar necesarios para mantener bajo control las desviaciones que influyen en el funcionamiento del sistema,

tanto bajo condiciones normales como adversas. La elaboración de estos documentos es indispensable, puesto que facilitan el acceso a la información de manera fácil, rápida y oportuna, permitiendo además, lograr un mejor manejo de las situaciones imprevistas.

La tendencia a aumentar las exigencias sobre la industria farmacéutica para que controlen sus procesos de manufactura es cada vez mayor, en particular, sus sistemas de purificación de agua. Si bien cada país genera sus propias normas, en la mayoría de los casos, las mismas se basan en aquellas de los países industrializados. Es común encontrar que aun en países donde no se han desarrollado regulaciones, las empresas multinacionales adoptan las mismas normas de sus casas matrices. Dentro de este panorama, la tecnología de un sistema integrado de purificación de agua tiene un importante campo de acción. De todas maneras, es importante tener en cuenta que es muy importante un diseño y operación adecuados del sistema para obtener los resultados buscados.

Desde las primeras semanas de operación, concluida la primera etapa de Calificación de funcionamiento, la planta produce agua con conductividad por debajo de 1.3 microsiemens por centímetro ($\mu\text{S}/\text{cm}$) y conteos bacteriológicos inferiores a 100 unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml). En resumen, si bien el requerimiento es de Agua Purificada, se está cumpliendo con la norma correspondiente a Agua purificada. Se logró así la validación de un sistema confiable que seguramente devolverá la inversión realizada a través de una operación segura, de bajo costo de mantenimiento y que abrirá la posibilidad de incursionar en mercados más sofisticados.

8. RECOMENDACIONES

El Sistema de purificación de agua deberá ser revalidado anualmente o cuando se realice alguna modificación, como cambio de equipos o de especificaciones, las cuales pueden afectar el normal desempeño del sistema y por consiguiente afectar la calidad del agua grado inyectable.

Utilizar el presente trabajo como referencia para realizar la validación de todos los procesos de producción de formas nutraceuticas, las cuales utilicen el agua grado purificada como materia prima.

Realizar una continua capacitación del personal con la finalidad de prepararlos en las distintas actividades realizadas en el laboratorio farmacéutico, en este caso en el adecuado desempeño dentro de la planta tanto en situaciones normales como de alerta. Estas charlas también deben crear conciencia en el personal del importante papel que desempeñan en el sistema de calidad.

La calidad del agua purificada se mantendrá dentro de los límites establecidos siempre y cuando se mantenga bajo control el proceso, lo cual implica el adecuado cumplimiento y aplicación del programa regular de muestreo, el programa anual de mantenimiento, el programa de limpieza y sanitización, etc.

Es necesario llevar la documentación de mantenimiento y limpieza del sistema de purificación de agua.

9. REFERENCIAS

AQUATECH INTERNATIONAL CORPORATION, AIC. 2003. Sistema de Tratamiento de Agua y de Aguas servidas. Manual de Operacion y Mantenimeinto. Volumen I. Proyecto (P-00101). [en línea]: <http://www.solidarisllc.com/GMP_Manuals/SISTEMA%20DE%20TRATAMIENTO%20DE%20AGUA.pdf> [Consulta: 12 octubre. 2009]

ARIAS, J. 2006. Métodos en microbiología farmacéutica. Primera edición. JAVEGRAF. Bogotá D.C. 57-59p.

Berry, I., Nash, R. 1993. "Pharmaceutical Process Validation". Drugs and the Pharmaceutical Sciences, 57: 256-297.

Castillo, A. 2002 Curso Internacional sobre Desarrollo de Implementación de Planes de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP). IICA/CECADI.

CHALONER, G., ANDERSON, R., EGAN A. 1998. Guía de la OMS sobre los requisitos de las prácticas adecuadas de fabricación (PAF). Programa mundial de vacunas e inmunización. 157p.

Contaminación y Purificación del Agua (México). 2003. Purificación de agua por Rayos Ultravioleta. [en línea]: <<http://contaminacion-purificacion-agua.blogspot.com/2005/09/purificacion-de-agua-por-rayos.html>> [Consulta: 1 Ago. 2009].

COLLENTRO, W. 2003. Pharmaceutical Water. System Desing, Operation and Validation. Second Edition. Interpharm/CRC Editors. 192-268 p.

DIAZ, F., SERRANO, L. 2008. Desinfección del agua con luz Ultravioleta. Formato en PDF (1-4 pag). [en línea]: <<http://www.agualatinoamerica.com/docs/PDF/3-4-02diaz.pdf>> [Consulta: 28 septiembre. 2009]

ELGA WATER LABORATORY, ELGALABWATER. 2002. Impurities in water. Variations in Raw Water Quality. Fomato en PDF (4p) [en línea]: <http://www.elgalabwater.com/?id=500&language=es> [Consulta: 6 noviembre,2009]

FORERO R., PIEDRAHITA D. 2008. Analysis and evaluation of manual cleaning processes of equipment used in dietary supplements manufacturing. Trabajo de grado (microbiólogo industrial). Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias, carrera de microbiología industrial. Bogotá, Colombia. 223p.

GONZÁLEZ, C. 2005. Validación retrospectiva y control estadístico de procesos en la industria farmacéutica. Trabajo de grado (químico farmacéutico). Universidad de Chile. Facultad de ciencias químicas y farmacéuticas. Departamento de ciencias y tecnología farmacéutica, carrera de química farmacéutica. Santiago, Chile. 62p.

Instituto de Tecnología ORT. 2009. Guía de Trabajos Prácticos. Microbiología I. Formato en PDF (17p). [en línea]: <campus.instituto.almagro.ort.edu.ar/biotecnologia-microbiologia/42159/> [Consulta 25 septiembre. 2009]

LENNTECH. Water Treatment & Purification Holding. 1998. Adsorption/Active Carbon. [en línea]:

<<http://www.lenntech.com/library/adsorption/adsorption.htm>> [Consulta: 14 octubre. 2009]

LERÍN, I., SALAZAR, R., SUÑÉ, J., TICÓ, J. 1999. Validación de sistemas de tratamiento de agua en la industria farmacéutica. Tecnología Industrial 1: 80-84.

MEDINA, H., JARA, W. 2003. Validación de un sistema de tratamiento de agua grado inyectable. Trabajo de grado (químico farmacéutico). Universidad Nacional mayor de San Marcos. Facultad de farmacia y bioquímica, carrera de química farmacéutica. Lima, Perú. 120 p.

MINISTERIO DE ADMINISTRACIONES PUBLICAS. 1998. Metodología Metrica Versión 3. Aseguramiento de la calidad. [en línea]: <<http://www.csae.map.es/csi/metrica3/calidad.pdf>> [Consulta: 15 julio. 2009].

NOLLET, L. 2005. Handbook of Water Analysis. First Edition. John Willey & Sons, Inc Editors. 113-167, 202-245 p.

ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD. OMS. 2002. Módulos Adicionales de la Capacitación sobre Buenas Prácticas de Manufactura. Validación de la limpieza. Formato en PDF (1-25 diap.) [en línea]: <<http://www.paho.org/spanish/ad/ths/ev/bpm-modulos-aguayaire.htm>> [Consulta: 12 octubre. 2009]

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD, OPS. 2002. Manual de Tratamiento de Agua en la Industria Farmacéutica. Tomo II. Capítulo 9. [en línea]: <<http://www.cepis.ops-oms.org/bvsatr/fulltext/tratamiento/manuall/tomoll/nueve.pdf>> [Consulta: 4 Ago. 2009]

PAEZ, L. 2008. Validacion secundaria del metodo de filtracion por membrana para la deteccion de coliformes totales y Escherichia coli en muestras de agua para consumo humano analizadas en el laboratorio de salud publica de huila. Tesis de grado para optar el titulo de Microbiología Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias Básicas. Bogotá. 134 p

PALMA, R., ORTIZ, J., Garnica, E.,López, L. Peñaranda, S., Raad, J. 1999. Análisis de agua para consumo humano. Instituto Nacional de Salud. Bogotá D.C.

PONCE, L., RODRÍGUEZ, A. 1992. Buenas prácticas de manufactura vigentes y su relación con la garantía de calidad. Revista colombiana de ciencias químico-farmacéuticas 20: 63-68.

SANCHEZ, I. 2001. Proceso en Estado de Control. Tesis de grado para optar por el Título de Ingeniero en Telecomunicaciones. Universidad Carlos III. Facultad de Ingenieria. Madrid, Espana. 112p

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, EPA. 2009. Ground Water & Drinking Water. Drinking Water Glosary. [en línea]: <<http://www.epa.gov/safewater/glossary.htm>> [Consulta: 2 noviembre. 2009]

UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, FDA. 2008. Departament oh Health, Education and Walfare Public Health. Application of the device good manufacturing practice regulation to the manufacture of sterile devices [en línea]: <<http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/UCM081619.pdf>> [Consulta 8 julio. 2009]

UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, FDA. 1997. Application of the good manufacturing practice regulation to the manufacture of sterile devices. [en línea]: <<http://www.fda.gov/ICECI/Inspections/InspectionGuides/InspectionTechnicalGuides/ucm072913.htm>> [Consulta: 17 julio. 2009]

UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, FDA. 2008. Department of Health, Education and Welfare Public Health. Dietary Supplements. [en línea]: <<http://www.fda.gov/Food/DietarySupplements/default.htm>> [Consulta 9 julio, 2009].

UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, FDA. 2008. Department of Health, Education and Welfare Public Health. Process Validation: General Principles and Practices. [en línea]: <http://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/GuidanceComplianceEnforcement/GuidanceforIndustry/UCM052448.pdf> [Consulta 15 julio. 2009]

UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, FDA. 2008. Department of Health, Education and Welfare Public Health. Reverse Osmosis (102180-36) [en línea]: <<http://www.fda.gov/ICECI/Inspections/InspectionGuides/InspectionTechnicalGuides/ucm072913.htm>> [Consulta: 14 julio. 2009]

US Filter. 2000. Service Deionization Systems. Users Guide. Siemens Water Technology. 66p.

UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION (USP). 2008. The United States Pharmacopeia. United States of America. 691 – 693; 695-706p.

ANEXOS

ANEXO 1. Cronología de la regulación para los suplementos alimenticios

Table 2.1 (Continued)

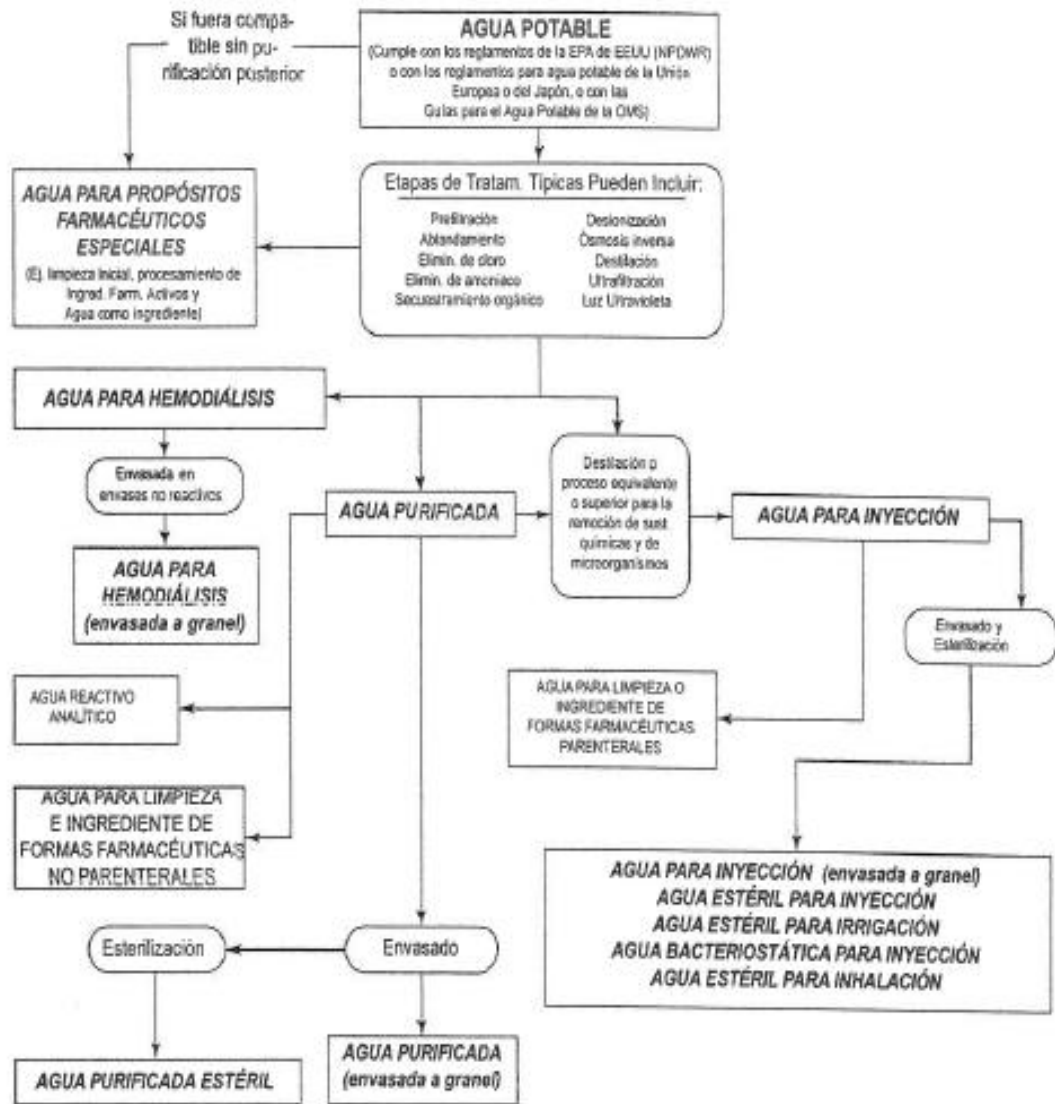
Year	Legislation or Ruling	Notes
1990	Nutrition Labeling and Education Act	Required that all packaged foods bear a standardized label citing ingredients and serving size; also stated that any health claims made on packages must correspond with terms defined by the Secretary of Health and Human Services.
1994	Dietary Supplement Health and Education Act	Defined <i>dietary supplements</i> and <i>dietary ingredients</i> for the first time, established labeling requirements and a regulatory framework specific to dietary supplements, named the Food and Drug Administration the body that determines good manufacturing practices, and created a commission to recommend how to regulate claims.
2003	Dietary Supplement Current Good manufacturing practices	Good manufacturing practices were proposed for the manufacture and labeling of dietary supplements. (The Food and Drug Administration is still working toward the publication of the current good manufacturing practices final rule.)
2006	Dietary Supplement and Nonprescription Drug Consumer Act	Congress passed a bill that requires manufacturers of dietary supplements and over-the-counter drugs to report all serious adverse effects to the Food and Drug Administration. As of the writing of this book, signature of the bill into law is in the President's hands.

FDA, 2006

ANEXO 3. Agua para usos farmacéuticos

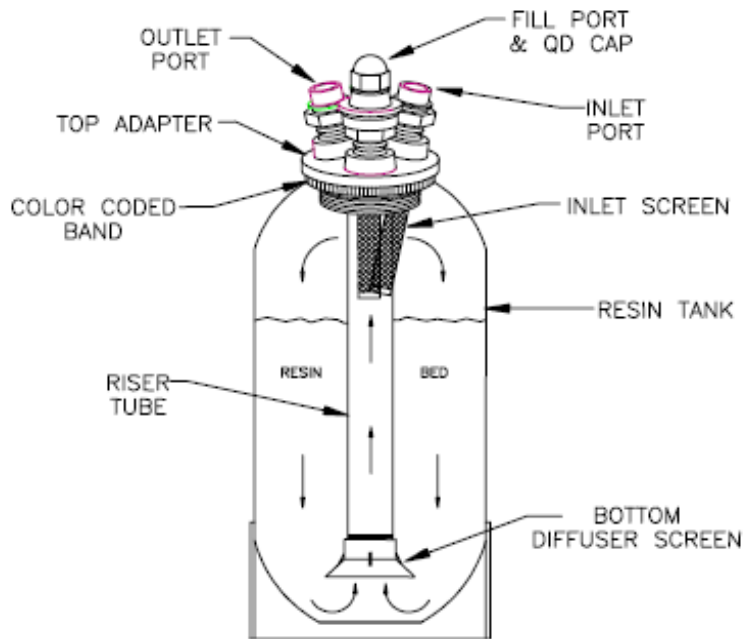
(1231) Agua para Uso Farmacéutico / Información General

USP 32



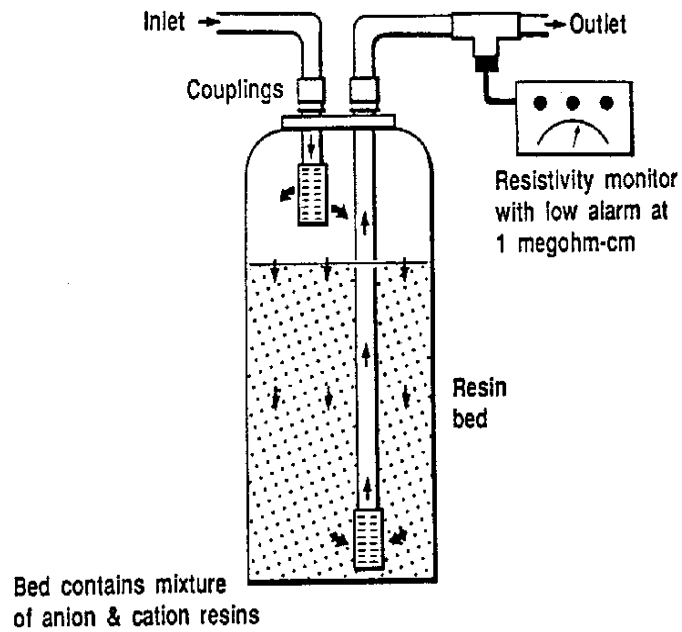
(USP, 2008)

ANEXO 5. Componentes del tanque de carbón activado

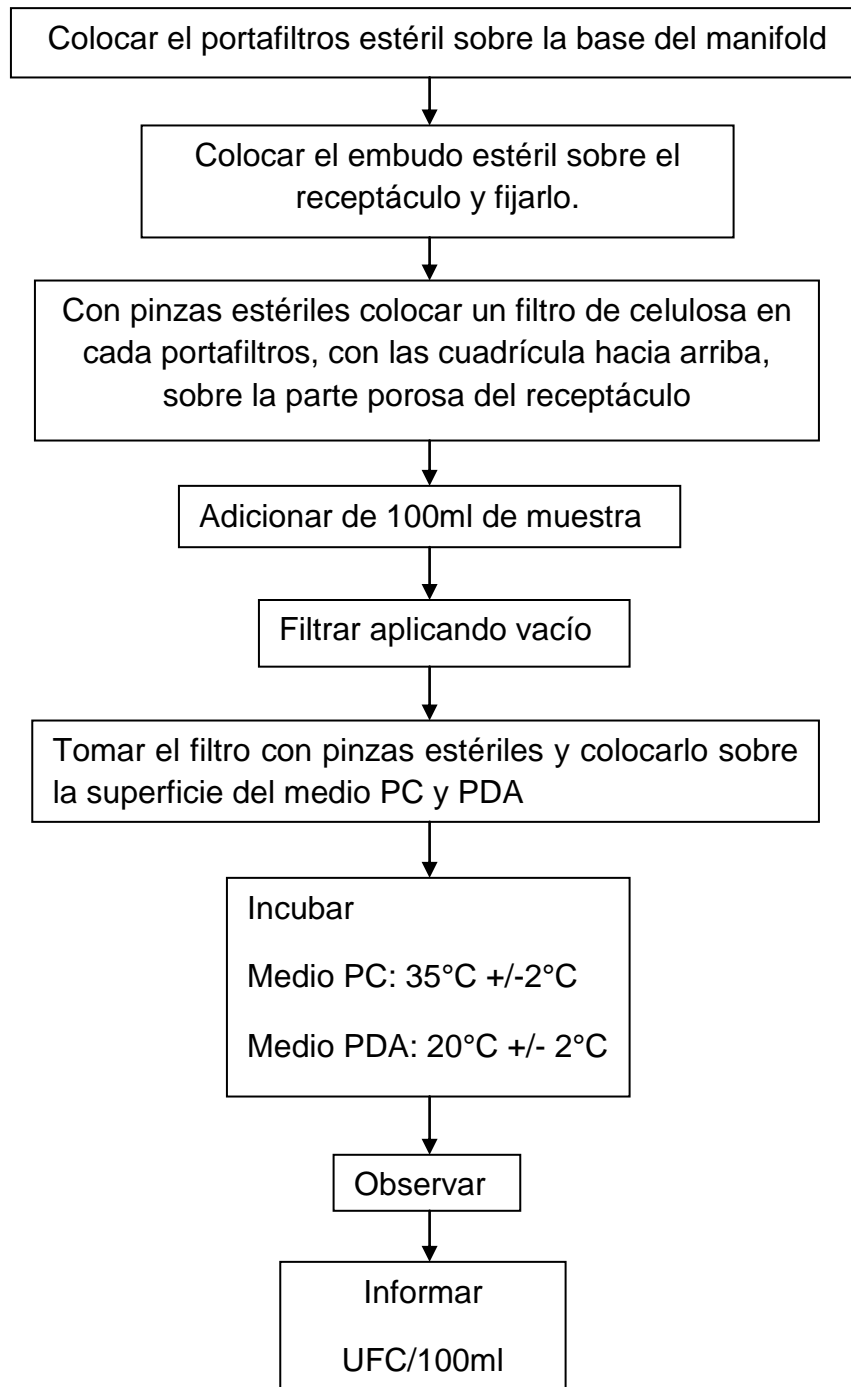


(US Filter, 2000)

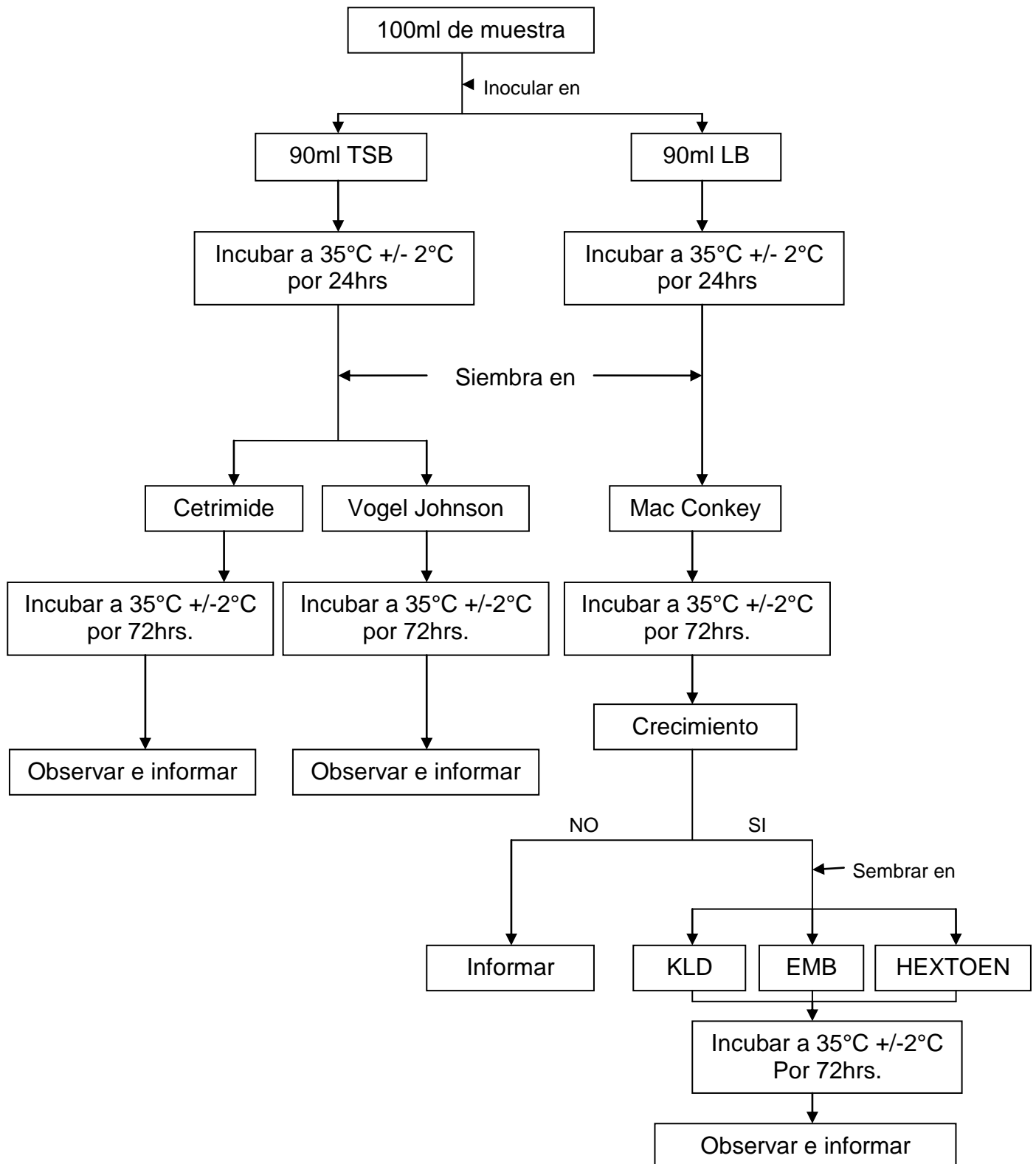
ANEXO 6. Tanque de lecho mixto



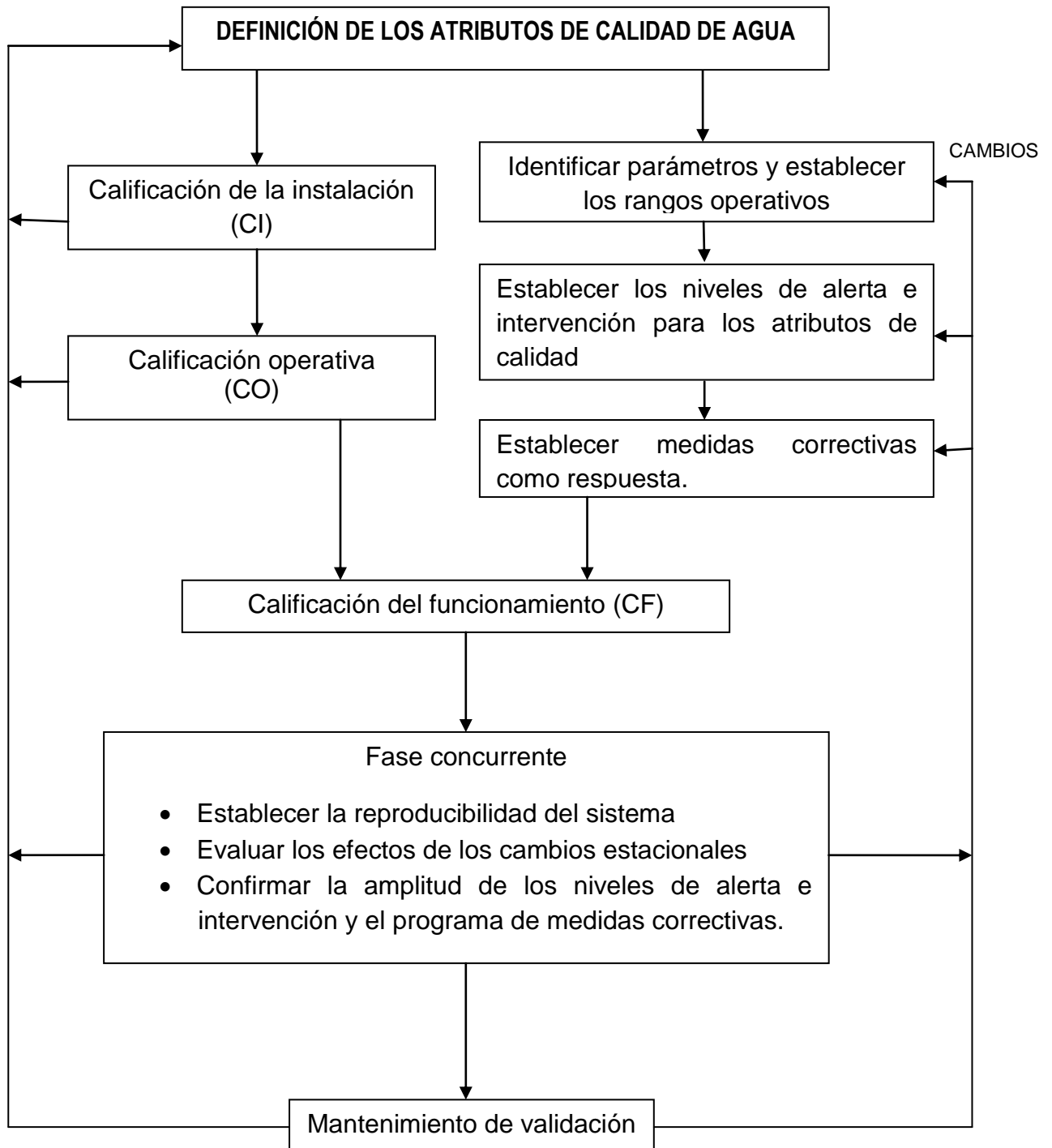
ANEXO 7. Diagrama de flujo de procedimiento experimental para recuento de mesófilos, mohos y levaduras.



ANEXO 8. Diagrama de flujo del procedimiento experimental para determinación de patógenos.



ANEXO 9. Ciclo de validación de un sistema de agua.



ANEXO 10. Resultados de análisis químicos y microbiológicos desde Octubre de 2008 hasta Septiembre de 2009.

FASE I

FECHA	pH	ZONA	PU	MICROORGANISMOS				PC	PDA
				<i>Ec</i>	<i>Sa</i>	<i>P</i>	<i>St</i>	(UFC/100ml)	(UFC/100ml)
10/01/08	7.38	L	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
10/02/08	6.42	L	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
10/03/08	8.52	R	1	A	A	A	A	1	0
			2	A	A	A	A	0	0
10/06/08	6.25	L	1	A	A	A	A	1	0
			2	A	A	A	A	0	0
10/07/08	6.44	L	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
10/08/08	5.96	R	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
10/09/08	7.46	M	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	2	0
10/10/08	6.24	Q	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
10/13/08	6.54	L	1	A	A	A	A	1	0
			2	A	A	A	A	0	1
10/14/08	6.76	R	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
10/15/08	7.24	M	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
10/16/08	6.54	Q	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
10/17/08	8.50	L	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
10/20/08	6.37	R	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
10/21/08	8.66	M	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0

10/22/08	6.82	Q	1	A	A	A	A	1	0
			2	A	A	A	A	0	0
10/23/08	8.27	L	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
10/24/08	5.03	L	1	A	A	A	A	2	0
			2	A	A	A	A	6	0
10/27/08	5.56	Q	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
10/28/08	6.57	M	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
10/29/08	6.65	L	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0

L: Cuarto de lavado; R: Cuarto de recubrimiento de tabletas; M: Laboratorio de microbiología; Q: Laboratorio de química. T: tiempo de dejar correr el agua; Ec: *Escherichia coli*; Sa: *Salmonella* sp.; P: *Pseudomona aureginosa*; *Staphylococcus aureus*. A: Ausencia en 10ml. PC: Plate Count Agar; PDA: Papa Dextrosa Agar. UFC: Unidad Formadora de Colonia.

FASE II

FECHA	pH	ZONA	PU	MICROORGANISMOS				PC (UFC/100ml)	PDA (UFC/100ml)
				<i>Ec</i>	<i>Sa</i>	<i>P</i>	<i>St</i>		
03/02/09	6.63	M	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
03/03/09	6.68	Q	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
03/04/09	6.93	M	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
03/05/09	7.11	Q	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
03/05/09	6.99	M	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0

03/06/09	6.03	M	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
03/09/09	6.61	Q	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
03/10/09	6.23	L	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
03/11/09	7.12	Q	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
03/12/09	6.98	M	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
03/13/09	6.72	R	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
03/16/09	6.82	Q	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
03/17/09	6.21	M	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
03/18/09	7.97	L	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
03/19/09	5.71	M	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
03/20/09	6.27	L	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
03/23/09	5.85	Q	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
03/24/09	6.02	R	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
03/25/09	6.57	M	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
03/26/09	6.83	M	1	A	A	A	A	0	0

			2	A	A	A	A	1	0
03/27/09	7.01	Q	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0

L: Cuarto de lavado; R: Cuarto de recubrimiento de tabletas; M: Laboratorio de microbiología; Q: Laboratorio de química. T: tiempo de dejar correr el agua; Ec: *Escherichia coli*; Sa: *Salmonella* sp.; P: *Pseudomona aureginosa*; *Staphylococcus aureus*. A: Ausencia en 10ml. PC: Plate Count Agar; PDA: Papa Dextrosa Agar. UFC: Unidad Formadora de Colonia.

FASE III

FECHA	pH	ZONA	PU	MICROORGANISMOS				PC	PDA
				Ec	Sa	P	St	(UFC/100ml)	(UFC/100ml)
08/24/09	6.32	L	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.96	Q	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
08/25/09	5.90	R (am)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.93	M (am)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.85	R (pm)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
5.82	M (pm)	1	A	A	A	A	0	0	
		2	A	A	A	A	0	0	
08/26/09	5.84	L(am)	1	A	A	A	A	1	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.83	Q (am)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.84	L (pm)	1	A	A	A	A	1	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.88	Q (pm)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
08/27/09	5.93	R (am)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.78	M (am)	1	A	A	A	A	0	0

			2	A	A	A	A	0	0
	5.97	R (pm)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.83	M (pm)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
08/28/09	5.76	L (am)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.83	Q (am)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.84	L (pm)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.84	Q (pm)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
08/31/09	5.89	R (am)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.88	M (am)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.90	R (pm)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.81	M (pm)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
09/01/09	5.86	L(am)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.89	Q (am)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.83	L (pm)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.85	Q (pm)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
09/02/09	5.86	R (am)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.87	M (am)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.85	R (am)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.84	M (am)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
09/03/09	5.76	L (am)	1	A	A	A	A	0	0

			2	A	A	A	A	0	0
	5.76	Q (am)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.75	L (pm)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.79	Q (pm)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
09/04/09	5.86	R (am)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.83	M (am)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.86	R (pm)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.85	M (pm)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
09/08/09	5.81	L (am)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.83	Q (am)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.82	L (pm)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	4.83	Q (pm)	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
09/09/09	5.87	M	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.91	R	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
09/10/09	5.81	L	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.83	Q	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
09/11/09	5.84	M	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.83	R	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
09/14/09	5.83	L	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.84	Q	1	A	A	A	A	0	0

			2	A	A	A	A	0	0
09/15/09	5.85	M	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.85	R	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
09/16/09	5.78	L	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.78	Q	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
09/17/09	5.76	M	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	5.75	R	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
09/18/09	5.74	L	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0
	7.75	Q	1	A	A	A	A	0	0
			2	A	A	A	A	0	0

L: Cuarto de lavado; R: Cuarto de recubrimiento de tabletas; M: Laboratorio de microbiología; Q: Laboratorio de química. T: tiempo de dejar correr el agua; Ec: *Escherichia coli*; Sa: *Salmonella* sp.; P: *Pseudomona aureginosa*; *Staphylococcus aureus*. A: Ausencia en 10ml. PC: Plate Count Agar; PDA: Papa Dextrosa Agar. UFC: Unidad Formadora de Colonia. am: horas en la mañana; pm: horas en la tarde.

CONTROL (AGUA DE LA CIUDAD)

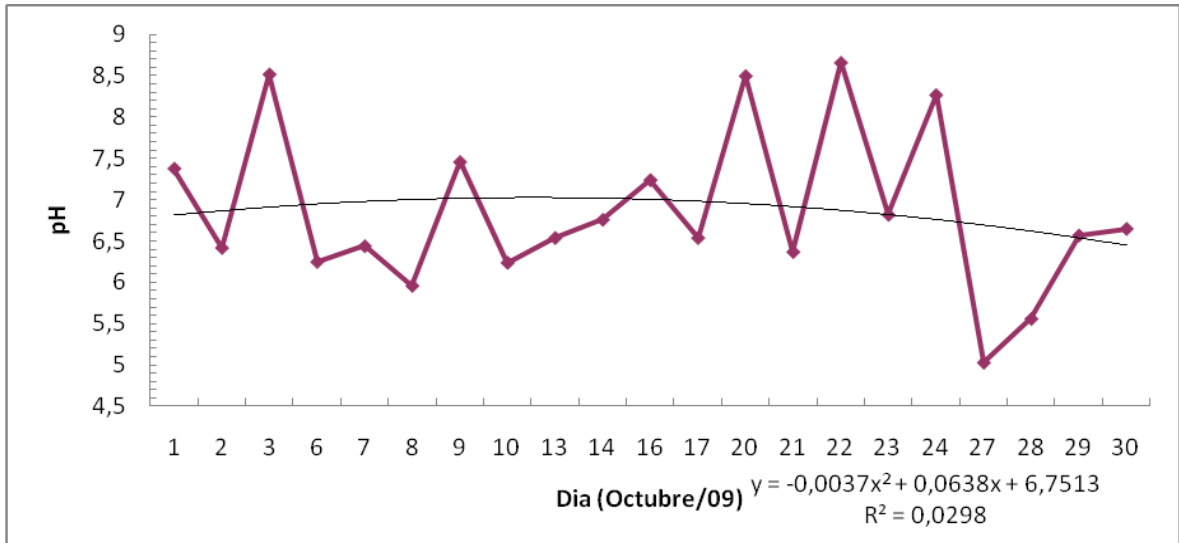
FECHA	pH	PU	MICROORGANISMOS				PC (UFC/100ml)	PDA (UFC/100ml)
			Ec	Sa	P	St		
10/01/08	8.73	1	A	A	A	A	0	0
		2	A	A	A	A	0	0
10/07/08	8.98	1	A	A	A	A	0	0
		2	A	A	A	A	0	0
10/14/08	9.10	1	A	A	A	A	6	0
		2	A	A	A	A	0	0
10/20/08	9.08	1	A	A	A	A	11	0

		2	A	A	A	A	0	0
03/02/09	9.13	1	A	A	A	A	0	0
		2	A	A	A	A	0	0
03/11/09	9.22	1	A	A	A	A	0	0
		2	A	A	A	A	0	0
03/16/09	9.16	1	A	A	A	A	0	0
		2	A	A	A	A	0	0
03/24/09	9.03	1	A	A	A	A	0	0
		2	A	A	A	A	0	0
08/24/09	9.42	1	A	A	A	A	0	0
		2	A	A	A	A	0	0
08/31/09	9.32	1	A	A	A	A	0	0
		2	A	A	A	A	0	0
09/08/09	9.12	1	A	A	A	A	0	0
		2	A	A	A	A	0	0
09/15/09	9.70	1	A	A	A	A	0	0
		2	A	A	A	A	0	0

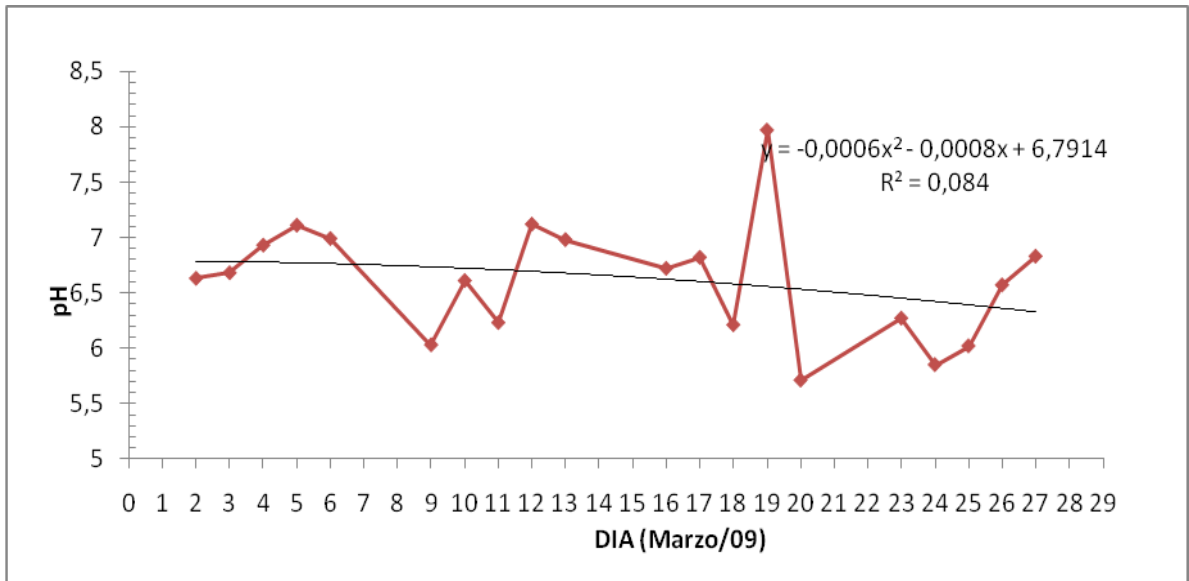
L: Cuarto de lavado; R: Cuarto de recubrimiento de tabletas; M: Laboratorio de microbiología; Q: Laboratorio de química. T: tiempo de dejar correr el agua; Ec: *Escherichia coli*; Sa: *Salmonella* sp.; P: *Pseudomona aureginosa*; *Staphylococcus aureus*. A: Ausencia en 10ml. PC: Plate Count Agar; PDA: Papa Dextrosa Agar. UFC: Unidad Formadora de Colonia. am: horas en la mañana; pm: horas en la tarde.

ANEXO 11. Análisis de tendencias

FASE I



FASE II



ANEXO 13. Cálculos Gráficas de control X-R y Capacidad de proceso (Cp)

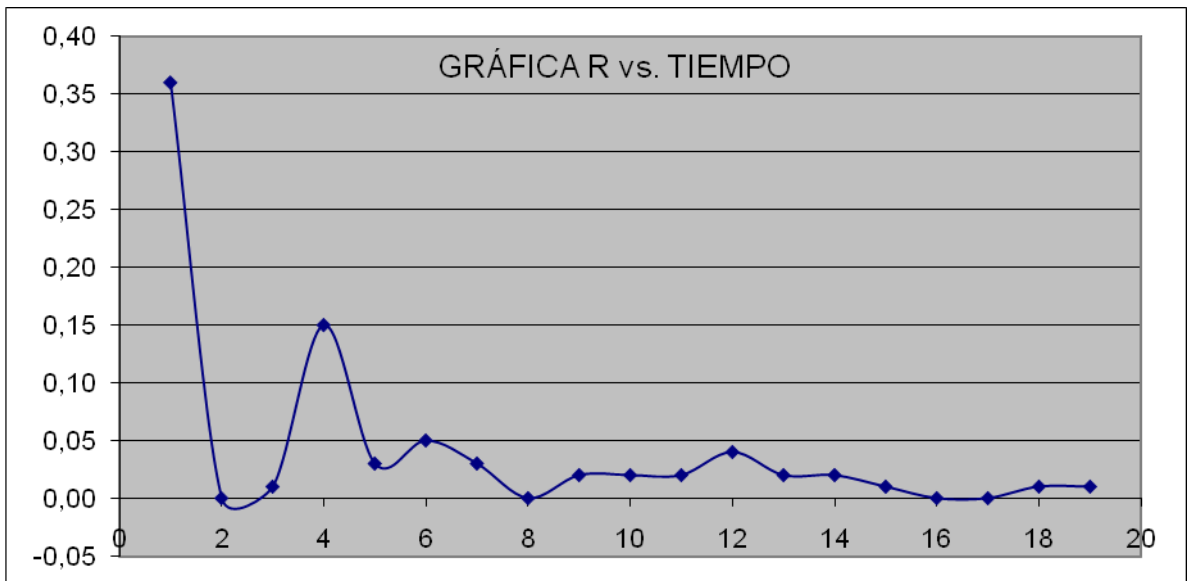
FECHA	pH		\bar{X}	R
08/24/2009	6,32	5,96	6,14	0,36
08/25/2009	5,87	5,87	5,87	0,00
08/26/2009	5,84	5,85	5,85	0,01
08/27/2009	5,95	5,8	5,88	0,15
08/28/2009	5,8	5,83	5,82	0,03
08/31/2009	5,89	5,84	5,87	0,05
09/01/2009	5,84	5,87	5,86	0,03
09/02/2009	5,85	5,85	5,85	0,00
09/03/2009	5,75	5,77	5,76	0,02
09/04/2009	5,86	5,84	5,85	0,02
09/08/2009	5,81	5,83	5,82	0,02
09/09/2009	5,91	5,87	5,89	0,04
09/10/2009	5,81	5,83	5,82	0,02
09/11/2009	5,82	5,84	5,83	0,02
09/14/2009	5,83	5,84	5,84	0,01
09/15/2009	5,85	5,85	5,85	0,00
09/16/2009	5,78	5,78	5,78	0,00
09/17/2009	5,75	5,76	5,76	0,01
09/18/2009	5,74	5,75	5,75	0,01

$$\bar{X} = 5,84 \quad R = 0,04$$

GRÁFICA CONTROL R

$$\begin{aligned} \text{Límite Superior de Control (LSC)} &= D4 \times \bar{R} \\ &= 3,268 \times 0,04 \\ &= 0,1376 \end{aligned}$$

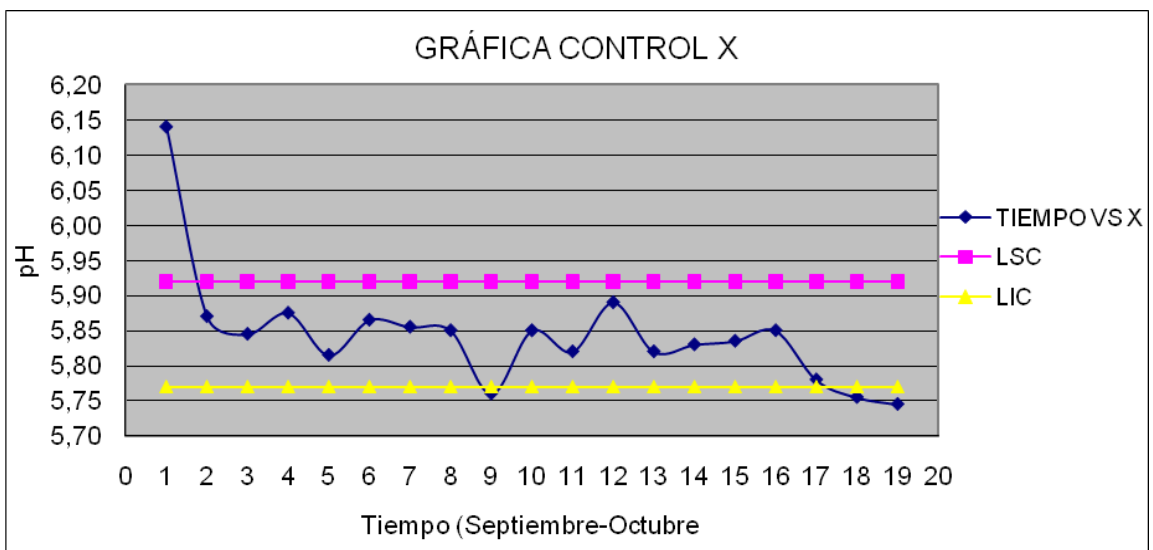
$$\begin{aligned} \text{Límite Inferior de Control (LIC)} &= D3 \times \bar{R} \\ &= 0 \times 0,04 \\ &= 0 \end{aligned}$$



GRÁFICA CONTROL X

$$\begin{aligned} \text{Límite Superior de Control (LSC)} &= \bar{\bar{X}} + (A_2)(\bar{R}) \\ &= 5,84 + (1,88)(0,04) \\ &= 5,92 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Límite Inferior de Control (LIC)} &= \bar{\bar{X}} - (A_2)(\bar{R}) \\ &= 5,84 - (1,88)(0,04) \\ &= 5,77 \end{aligned}$$



CAPACIDAD DE PROCESO

Límite superior (LS) = 7

Límite Inferior (LI) = 5

$\sigma = 0,037$

$$Cp = \frac{LS - LI}{6\sigma}$$

$$Cp = 8,93$$

ANEXO 15. Medios de cultivo empleados

Medio PC (Plate Count agar)

Extracto de carne 3.0g/L

Peptona de caseína (libre de carbohidratos fermentables) 5.0g/L

Cloruro sódico 5.0g/L

Agar – agar 12.0g/L

Medio PDA (Papa dextrosa agar)

Infusión de papa (infusión de 200g de papas) 4.0g/L

D – Glucosa 20.0g/L

Agar – agar 15.0g/L

MacConkey agar

Peptona de gelatina 17.0g/L

Pluripeptona 3.0g/L

Lactosa 10.0g/L

Mezcla de sales biliares 1.5g/L

Cloruro de sodio 5.0g/L

Rojo neutro 0.03g/L

Cristal violeta 0.001g/L

Agar-agar 13.5g/L

Levine EMB agar

Peptona 10.0g/L

Lactosa 10.0g/L

Fosfato dipotásico 2.0g/L

Eosina 0.4g/L

Azul de metileno 0.065g/L

Agar-agar 13.5

Preparación: El medio de cultivo se disuelve en agua purificada, mientras la mezcla se calienta y homogeniza. Posteriormente se lleva a esterilizar en autoclave a 121°C, 15 libras de presión por 30 minutos.

Cetrimide agar

Peptona de gelatina 20.0g/L

Cloruro de magnesio 1.4g/L

Sulfato de potasio 10.0g/L

Cetrimide 0.3g/L

Agar-agar 13.0g/L

El medio de cultivo se disuelve en agua purificada, mientras la mezcla se calienta y homogeniza. Posteriormente se adiciona 10ml/L de glicerol para llevarse a esterilizar en autoclave a 121° C, 15 libras de presión por 30 minutos.

VJ Agar (Vogel Johnson Agar)

Triptona 10.0g/L

Extractoo de levadura 5.0g/L

Manitol 10.0g/L

Fosfato dipotásico 5.0g/L

Cloruro de litio 5.0g/L

Glicina 10.0g/L

Agar-agar 15.0g/L

Rojo de fenol 0.025g/L

El medio de cultivo se disuelve en agua purificada, mientras la mezcla se calienta y homogeniza. Posteriormente se adiciona 20ml/L de una solución de telurito al 1% para llevarse a esterilizar en autoclave a 121° C, 15 libras de presión por 30 minutos.

Hektoen Entérico agar

Peptonas 15.0g/L(X)
Cloruro de sodio 5.0g/L
Extracto de levadura 3.0g/L
Sucrosa 14.0g/L
Lactosa 14.0g/L
Salicina 2.0g/L
Tiosulfato de sodio 5.0g/L
Citrato de hierro y amonio 1.5g/L
Mezcla de sales biliares 2.0
Azul de bromotimol 0.05g/L
Fucsina ácida 0.08g/L
Agar-agar 13.5g/L

XLD agar (Xilosa, Lisina, Desoxycholate agar)

Extracto de levadura 3.0g/L
Cloruro de sodio 5.0g/L
D – Xylosa 3.75g/L
Lactosa 7.5g/L
Sucrosa 7.5g/L
L – Lisina 5.0g/L
Desoxicolato de sodio 1.0g/L
Tiosulfato de sodio 6.5g/L
Citrato férrico de amonio 0.8g/L
Rojo de fenol 0.08g/L
Agar-agar 14.5g/L

Preparación: El medio de cultivo se disuelve en agua purificada, mientras la mezcla se calienta y homogeniza. No se esteriliza.

Caldo TSB (Caldo tripticasa soya)

Triptona 17g/L

Soytone 3g/L
Cloruro sódico 5g/L
Glucosa 2.5g/L
Fosfato dipotásico 2.5g/L

Caldo LB (Caldo lactosa)

Peptona 5.0g/L
Extracto de carne 3.0g/L
Lactosa 5.0g/L

Preparación: El medio de cultivo en polvo es disuelto en agua purificada, mientras la mezcla se homogeniza. Posteriormente se lleva a esterilizar en autoclave a 121°C, 15 libras de presión por 30 minutos.