



UNIVERSITAT
ROVIRA I VIRGILI

CLARIANT 

TREBALL FI DE GRAU DE QUÍMICA EN MENCIÓ DUAL

DESENVOLUPAMENT D'UN MÈTODE PER ESPECTROSCÒPIA NIR

IRENE SABATÉ DIEZ

Curs: 2021-2022

Tutora acadèmica: Dra. M^a Pilar Callao Lasmarias

Tutors de l'empresa: Dra. Ariadna Campos Carrasco
Daniel Pardos García

Empresa: Clariant Ibérica Producción S.A.

ÍNDEX

1	Resum	2
2	Introducció	3
3	Objectiu.....	4
4	Fonaments teòrics	5
	4.1 Espectroscòpia NIR.....	5
	4.2 Mètode comparatiu	6
	4.3 Índex de saponificació.....	8
5	Metodologia experimental.....	9
	5.1 Procés de producció.....	9
	5.2 Càlcul de beneficis.....	11
	5.3 Presa de mostres.....	13
	5.4 Anàlisi tradicional.....	13
	5.4.1 Instrumental	13
	5.4.2 Reactius.....	13
	5.4.3 Mètode operatiu	14
	5.5 Anàlisi pel NIR.....	15
	5.5.1 Instrumental.....	15
	5.5.2 Reactius.....	15
	5.5.3 Mètode operatiu	15
	5.6 Desenvolupament del mètode	15
	5.6.1 Creació del mètode NIR	16
	5.6.2 Validació del mètode	17
	5.6.3 Posada en marxa	18
6	Resultats.....	19
	6.1 Avaluació de beneficis.....	19
	6.2 Zones espectrals.....	20
	6.3 Presa de mostres.....	23
	6.4 Anàlisi tradicional.....	24
	6.5 Anàlisi pel NIR	24
	6.6 Desenvolupament del mètode	24
	6.7 Planificació.....	34
7	Conclusions	35
8	Bibliografia	37
9	Annexos.....	38

1 RESUM

El laboratori de qualitat de Clariant treballa en la millora continua, de manera que intenta modernitzar i millorar els recursos i condicions per aconseguir augmentar l'eficiència.

Mitjançant la tècnica NIR (espectroscòpia de l'infraroig proper) es pot obtenir un mètode comparable més ràpid i igual de fiable que implica uns beneficis a diferents nivells pel laboratori i producció. Per posar a punt aquest anàlisi, s'han hagut d'agafar valors de l'anàlisi convencional i els seus respectius espectres del NIR, i desenvolupar un mètode comparatiu que relacionés els dos resultats.

En aquest projecte s'ha aconseguit elaborar un mètode per canviar l'anàlisi de l'índex de saponificació per una mesura amb el NIR, obtenint així el mateix resultat en un temps molt menor i reduint el cost i els reactius a utilitzar en cada mesura.

ABSTRACT

Clariant's quality laboratory works on continuous improvement, so it tries to modernize and improve resources and conditions to increase efficiency.

Using the NIR technique (near infrared spectroscopy) a faster and equally reliable comparable method can be obtained that implies benefits at different levels for the laboratory and production. To get this analysis ready, we had to take values from conventional analysis and their respective NIR spectra and develop a multivariate method that related the two results.

In this project, a method has been developed to change the saponification index analysis by a measure with the NIR, obtaining the same result in a much shorter time and reducing the cost and reagents to be used in each measure.

2 INTRODUCCIÓ

Aquest treball s'ha desenvolupat a l'empresa Clariant Ibérica Producción S.A. (Tarragona), concretament al laboratori del Departament de Control de Qualitat.

Clariant prové de l'empresa Höchs que, després de divisions de l'empresa, el 1995 canvia el nom a Clariant. En pocs anys s'ha convertit en una de les empreses químiques especialitzades líders al món. Opera a nivell mundial, en els 5 continents, amb la seu central a Muttenz, prop de Basilea (Suïssa).

Contribueix a la creació de valor amb solucions innovadores i sostenibles per a clients de moltes indústries. Es poden diferenciar 3 àrees de negoci: "Care Chemicals", Recursos Naturals i "Catalysis". Es fabriquen moltes matèries per a la producció de productes de cura personal, metal·lúrgia, mineria, petroli, cura de la llar, fitosanitaris i cada vegada més excipients farmacèutics. El producte amb més demanda actualment és l'Hostapon SI, utilitzat per la producció de cosmètics, on en destaquen els sabons de la marca Dove.

La planta de Tarragona es va inaugurar el 2013, sent l'únic centre de producció de polímers AMPS de Clariant, després d'acollir la producció d'unes de les plantes que es trobava a Anglaterra. Consta de 3 plantes de producció: la planta ETHOX, dedicada a l'obtenció de productes derivats de l'òxid d'etilè i òxid de propilè; la planta AMPS, destinada a la producció de determinats productes per cosmètica i petroli, anomenada així pel monòmer principal que s'utilitza, l'àcid 2-acrilamida-2-metilproà sulfònic, i la planta MPP (Planta Multi-Propósitos) que permet la producció de múltiples productes.

El laboratori del Departament de Qualitat té com a objectiu principal poder garantir la qualitat dels seus productes, durant el procés i al finalitzar i envasar. És per això que es busca la màxima eficiència, intentant obtenir resultats el més exactes i en el menor temps possible. Per aconseguir-ho, cal anar modernitzant tant els equips com els mètodes en la mesura del possible, millorant així, a part de l'eficiència, les condicions de treball.

En aquest període, es vol desenvolupar un mètode per a utilitzar en l'aparell de l'infraroig proper (NIR), que permeti substituir per a un conjunt de productes l'anàlisi d'índex de saponificació que s'efectua actualment al laboratori. Aquest mètode s'utilitzarà per un grup concret de productes que comparteixen l'estructura de l'anhídrid maleic que contenen, i per tant amb parts de l'espectre que es poden relacionar amb la quantitat de maleic present.

3 OBJECTIU

Aquest projecte consisteix en el desenvolupament d'un mètode òptim, precís i robust d'espectroscòpia NIR per quantificar l'índex de saponificació d'una família de productes i poder substituir el mètode convencional actual en el laboratori de qualitat.

Conseqüentment es vol estudiar els canvis a nivell econòmic, de producció, mediambiental i de temps invertit que ocasionaria la implantació del mètode, tenint com a objectiu obtenir beneficis en tots els nivells.

4 FONAMENTS TEÒRICS

4.1 ESPECTROSCÒPIA NIR

L'espectroscòpia estudia les interaccions entre la matèria i la llum. Aquesta llum es pot estudiar a diferents rangs, i en el cas de l'infraroig proper tal com es veu a la figura 1, treballa amb una longitud d'ona entre 700 i 2500 nanòmetres.

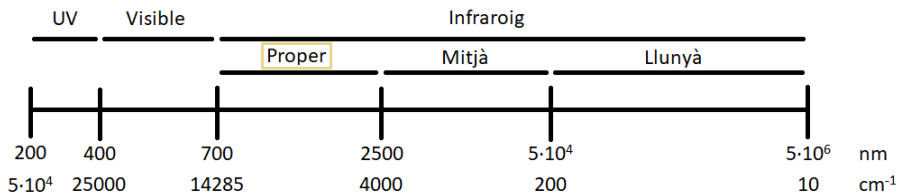


Figura 1. Zona espectral de l'infraroig proper.

En aquest rang es troben sobretons i bandes de combinació de les bandes fonamentals de les molècules. Les bandes més freqüents són degudes a enllaços que contenen àtoms amb diferències de pes molecular importants, augmentant així l'anharmonicitat de l'enllaç: C-H, N-H, O-H, S-H. Aquestes bandes són anomenades secundàries, ja que són més febles que les fonamentals i, consegüentment, les seves absortivitats molars molt inferiors a les corresponents en les bandes d'infrarojos. Aquesta característica permet l'ús de mostres no diluïdes, no cal una preparació prèvia de la mostra, i segons l'instrument, té la possibilitat d'analitzar tan mostres líquides com sòlides i gasoses.¹ El de Clariant només pot fer servir mostres líquides.

Durant l'absorció de la radiació NIR, les molècules són excitades produint vibracions i a partir de l'espectre reflectit es poden determinar de manera ràpida i sense alterar la mostra les seves propietats.²

L'instrument està compost per una font de llum, un monocromador i un detector que permet obtenir l'espectre corresponent. Per a que l'instrument ens pugui donar una resposta relacionada amb l'espectre, s'ha d'establir un mètode quimiomètric. És important saber on es troben els diferents grups funcionals per a poder establir relacions amb els pics dels diferents espectres. En la figura 2 és mostren on es troben els diferents sobretons i combinacions, i la poca amplitud de cadascuna d'elles. A l'annex 1 es troben les taules referents a cada grup funcional i les seves longituds d'ona corresponents.

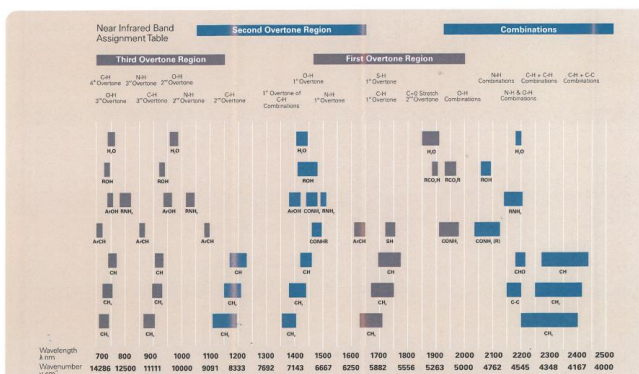
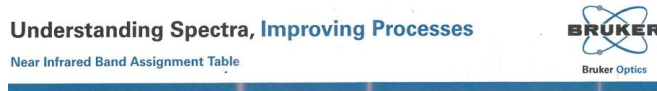


Figura 2. Taula d'assignació de bandes del NIR.

4.2 MÈTODE COMPARATIU

Per poder analitzar simultàniament un conjunt de dades on hi ha més d'una variable i relacionar una espectre i un valor numèric, es necessari un mètode comparatiu. D'aquesta manera es pot extreure molta més informació i prendre decisions òptimes sobre elles. Mitjançant el software és podrà crear aquell mètode que predigui millor el valor de les mostres. En ell, s'ha de seguir un ordre i entendre els diferents passos i paràmetres presents per escollir la millor opció en cada cas.³

Per poder representar les mostres i poder extreure relacions entre les seves variables, es necessari reduir la dimensió de les dades, però mantenint la màxima informació possible. Mitjançant la descomposició en components principals (PCA), es canviaran les variables principals per unes altres resultats de la combinació lineal de les primeres. Aquest canvi permet, a més de representar les mostres, trobar els scores i els loadings. Els scores representen la relació que hi ha entre les mostres. És amb aquest gràfic amb el que es poden diferenciar les mostres, com aquelles redundants, o agafar grups de prova aleatoris. Es defineixen com mostres redundants aquelles que sent mostres diferents, tenen informació molt semblant.

Per elaborar els mètodes, s'han de tenir en compte les diferents zones espectrals. En elles es podran diferenciar els grups funcionals corresponents a les diferents estructures dels productes, però també pot haver interferències. Son perturbacions no desitjables que degraden la qualitat de l'espectre. El soroll és una de les interferències que més destaquen a l'espectre, degut a les radiacions alienes al senyal desitjat. És important que s'eliminin de la regió a mesurar, ja que faran variar de manera errònia el model.

A part dels components principals, cal tenir present les possibles fonts de variació no relacionades amb la propietat a determinar. Aplicant un pretractament es facilitarà la interpretació posterior de les dades i s'evitaran aquestes possibles fonts de variació. Els pretractaments dels que disposa el software utilitzat son les següents:

- No pretractament
- Eliminació de desnivell constant
- Sostracció de línia recta
- Normalització vectorial (SNV)
- Normalització mín.-màx.
- Correcció de dispersió multiplicativa (MSC)
- Primera derivada
- Segona derivada
- Primera derivada + sostracció de línia recta
- Primera derivada + SNV
- Primera derivada + MSC

Els mètodes que s'obtenen a partir de les optimitzacions, poden seguir una validació creuada (cross-validation) o una validació externa. En el primer cas es fan una sèrie de models deixant en cada cas un o més dels objectes fora del model i observant la seva predicció. En la validació externa les dades es divideixen en dos subgrups: de calibració i de prova. Els de calibració construeixen el model i amb els de prova es valida per veure la seva predicció. És important que el conjunt de prova sigui representatiu. Per a poder realitzar aquest tipus de mètode, es necessari tenir un nombre elevat de mostres.

Quan s'han elaborat diferents mètodes, cal comparar-los per poder escollir quin és el més òptim per implantar com a mètode final. Per escollir i justificar l'elecció del mètode més adient, cal prestar atenció a diferents paràmetres que mostra el software o que es poden calcular fàcilment.⁴

- **Outliers:** espectres discrepants.
La seva resposta no concorda amb les altres, donant resultats que empitjoren el mètode. Abans d'eliminar aquesta mostra del model, s'hauria de repetir l'anàlisi convencional per comprovar que no sigui un error del resultat proporcionat. Si no hi ha error en el valor, s'ha de mirar per quin o quins motius és discrepant. En alguns casos es consideren outliers les mostres dels extrems, escorçant el rang i disminuint la representativitat del model, és per això que no s'han de considerar outliers si no hi ha cap altre aspecte fora del comú.
- **Regió:** zona o zones de l'espectre amb les que treballa el model.
Les contribucions pel soroll o bandes d'interferència poden fer disminuir la qualitat del model, és per això que s'ha de vigilar amb els pics d'absorbància superior a 2 en el desenvolupament dels mètodes.
- **R²:** coeficient de correlació.
Expressa el percentatge de variància en els valors dels components que son reproduïts a la predicció. El mètode és més acurat com més proper a 100 és el seu valor. Si se seleccionen paràmetres erronis, hi ha una precisió insuficient de les dades de referència o existeixen outliers en la calibració, aquest valor pot disminuir significativament.
- **REMSECV:** Root Mean Square Error of Cross Validation.
Relacionat amb la precisió del mètode. Un valor proper a 0 indica l'existència de poc error en el mètode. En la validació externa s'expressa com RMSEP (Root Mean Square Error of Prediction) i té el mateix significat.
- **Bias:** promig dels errors.
La desviació mitjana sistemàtica entre el conjunt de dades reals i les predites. S'estima obtenir el menor bias possible.
- **RPD:** Desviació de Predicció Residual.
Mesura quantitativa de l'avaluació dels resultats de la validació. Es quantifica mitjançant la divisió de la desviació estàndard dels valors de referència (SD) entre el bias corregit de la predicció (SEP_{bais}). La taula 1 ajuda a veure l'aplicació dels mètodes desenvolupats segons el valor de RPD obtinguts.

Taula 1. Interpretació de l'avaluació de la desviació del model (RPD).

RPD	Classificació	Aplicació
<1,0	Molt pobre	No recomanable
1,0 - 2,4	Pobre	No recomanable
2,5 - 2,9	Imparcial	Projecció aproximada
3,0 - 3,9	Raonable	Control
4,0 - 5,9	Bo	Control de qualitat de fabricació
6,0 - 7,9	Molt bo	Assegurament de qualitat
8,0 - 10	Excel·lent	Qualsevol aplicació
>10	Superior	Tan bo com a referència

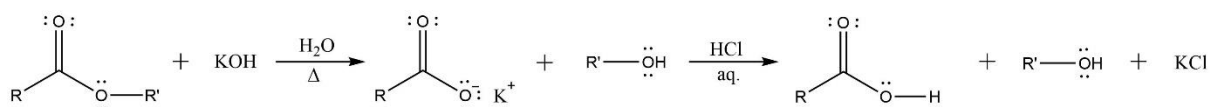
- **MD:** Distància de Mahalanobis
Diferència entre l'espectre mitjà de l'analit i el valor mitjà de tots els espectres de calibració utilitzats al reconstruir la matriu de dades espectrals pel nombre donat de mostres. Augmenta amb la presència de turbulències externes, contaminació de les mostres, alteració de la temperatura o per la possibilitat de distorsió el pic.

- **Rang:** número de factors escollits.

S'ha d'escollir el número de factors que minimitzi l'error de predicció. Si hi ha dos models semblants s'escollirà el de menor rang, ja que necessitarà menys variables i per tant serà més senzill.

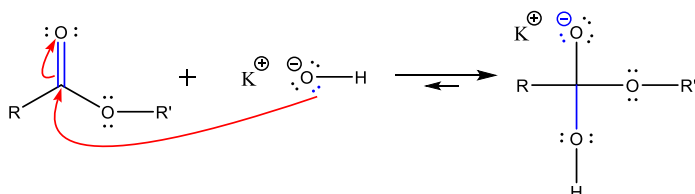
4.3 ÍNDEX DE SAPONIFICACIÓ

Al reaccionar un element gras i una base en presència d'aigua i temperatura, es produeix la reacció de saponificació, la hidròlisi d'un èster, generant sals alcalines derivades d'àcids grassos i glicerina com a subproducte. La base a utilitzar acostuma a ser hidròxid de sodi (NaOH) o hidròxid potàssic (KOH), obtenint al final de la reacció sals sòdiques o potàssiques. Es necessari la presència de temperatura i aigua al medi per a que es doni la reacció.⁵



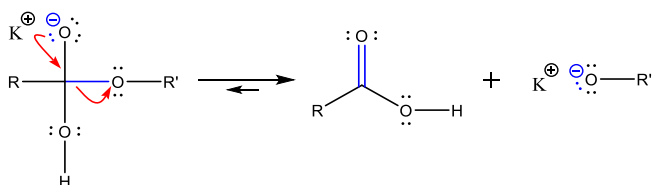
El mecanisme d'aquesta reacció té 3 etapes:

1. Addició nucleòfila 1,2 del ió hidròxid (OH⁻) a l'èster.



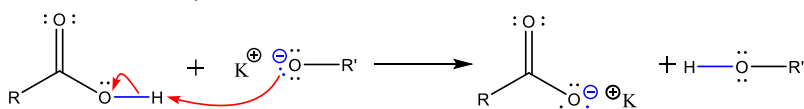
El doble enllaç és polar, hi ha diferència d'electronegativitat significativa entre el carboni i l'oxigen, i això provoca que el carboni tingui una càrrega parcial positiva. Aquest fet el converteix en el centre de l'electròfil i objectiu del nucleòfil. D'aquesta manera es forma un intermediari tetraèdric.

2. Eliminació del grup alcoholat.

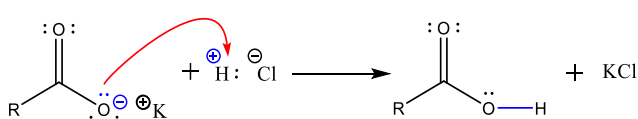


L'intermediari tetraèdric expulsa el grup sortint, l'alcoholat, i forma l'àcid carboxílic.

3. Reacció àcid base entre l'àcid carboxílic i l'ió alcoholat. Desprotonació al sostreure el protó àcid de l'àcid carboxílic per formar l'alcohol i l'ió carboxílic.



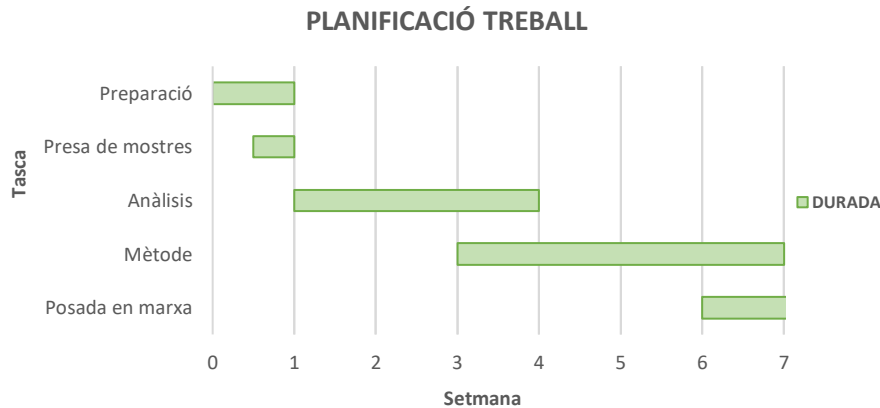
L'àcid carboxílic es formarà amb la protonació de l'ió carboxílic per l'addició de l'àcid a la reacció.⁶



És aquest àcid final amb el que es fa una valoració per poder quantificar l'índex de saponificació (SAPO). En la valoració es troba l'excés de KOH afegit inicialment, i per tant, quant ha consumit l'èster inicial que es converteix en àcid carboxílic. Amb l'índex s'indiquen els mil·ligrams de KOH necessaris per saponificar un gram de mostra.

5 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

Abans de començar a treballar amb les mostres i el mètode, cal tenir una planificació. Implica separar la realització de les diferents tasques estimant el temps necessari per enllestir cadascuna d'elles. En el gràfic 1 es mostra la planificació inicial, seguit de l'explicació de cada tasca.



Gràfica 1. Planificació inicial del treball.

- **Preparació:** cerca i lectura bibliogràfica per entendre d'inici el projecte a realitzar.
- **Presa de mostres:** localització i obtenció de les mostres a analitzar segons el producte i l'etapa mitjançant les bases de dades.
- **Anàlisi:** realització dels anàlisis al laboratori tant amb el mètode tradicional com amb el nou que es vol implantar.
- **Mètode:** desenvolupament mitjançant el software del mètode pel NIR.
- **Posada en marxa:** elaboració de la instrucció del mètode i de la xerrada curta a realitzar a tots els analistes i tècnics, implementació del mètode a l'instrument i càlcul dels beneficis.

En arribar al final de l'estudi es podrà discutir el compliment d'aquesta organització prèvia o les modificacions per diferents causes, tant d'aquelles previsibles que no s'han tingut en compte com els imprevistos que han sorgit.

5.1 PROCÉS DE PRODUCCIÓ

Per tal de millorar la feina al laboratori, es realitzen millores contínues tan dels instruments a utilitzar com dels mètodes analítics.

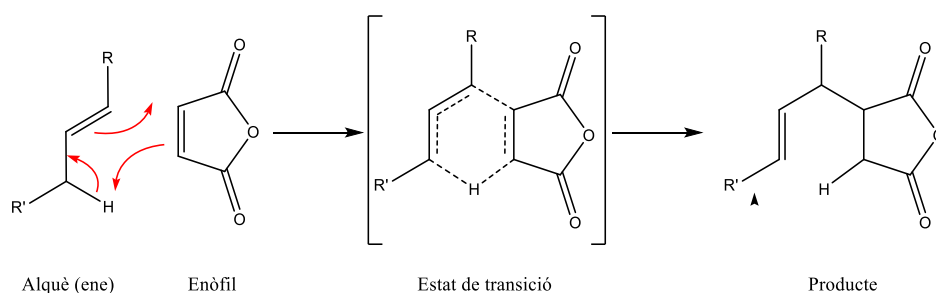
En el mètode que es vol desenvolupar, s'intentaran introduir els màxims productes possibles que comparteixin alguna semblança estructural i espectral i que, per tant, siguin comparables i compatibles en el mateix mètode.

En aquest cas, es volen introduir al mètode aquells productes que contenen anhídrid maleic en la seva estructura, ja sigui en el producte acabat o en alguna de les seves etapes prèvies. A l'empresa hi ha 9 productes que tenen l'índex de saponificació com anàlisi a realitzar en procés o producte final.

En tots els casos es tracta d'una reacció d'Alder-Ene seguit d'una polimerització per temperatura, on hi participa l'anhídrid maleic, ja sigui com a reactiu o formant part de l'estructura del reactiu d'inici, un producte previ. En algun cas, després d'aquesta reacció, es dona una esterificació del carbonil, provinent del maleic, amb un poliòl.

L'Alder-Ene és una reacció pericíclica caracteritzada per un estat de transició cíclic i alta estereoespecificitat. La reacció es dona entre l'anhídrid maleic i una olefina (α -olefina, poliisobutilè, etc.). Té un mecanisme semblant a la reacció Diels-Alder però requereix energies d'activació més elevades. Per aquest motiu requereixen temperatures més elevades, tot i que utilitzant àcids de Lewis com a catalitzadors s'aconsegueixen condicions més lleus i millor estereoselectivitat. L'alquè a reaccionar conté un hidrogen al·lílic que permetrà la donació d'electrons. L'anhídrid està format per un enllaç π , anomenat enòfil, i substituents electroattractors que redueixen l'orbital LUMO (orbital no ocupat de més baixa energia) de l'enllaç π .⁷

L'hidrogen al·lílic es transferit a l'enòfil i l'enllaç π de l'alquè es transposat, formant nous enllaços σ C-H i C-C.⁸



En la reacció interaccionen 3 components: els orbitals HOMO (orbital ocupat de major energia) de l'alquè, l'orbital LUMO de l'enllaç C-H al·lílic de l'alquè, i l'orbital LUMO de l'enòfil, mostrats en la figura 3.⁹

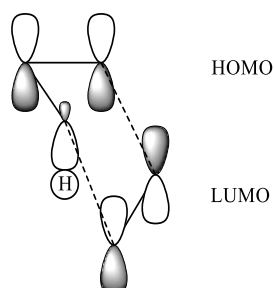
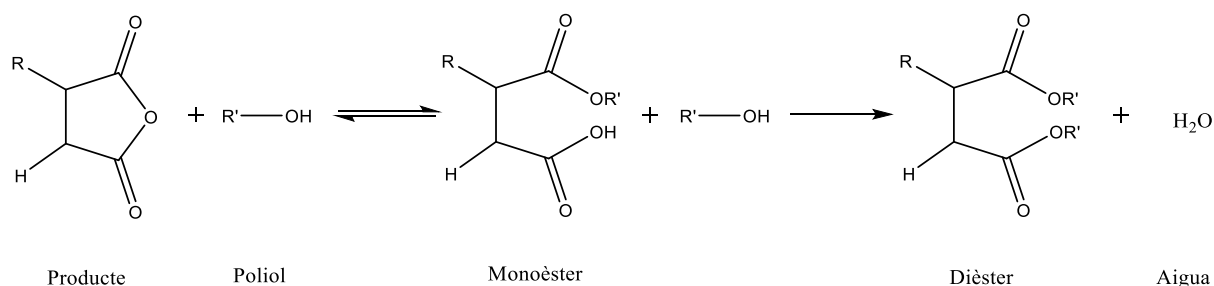


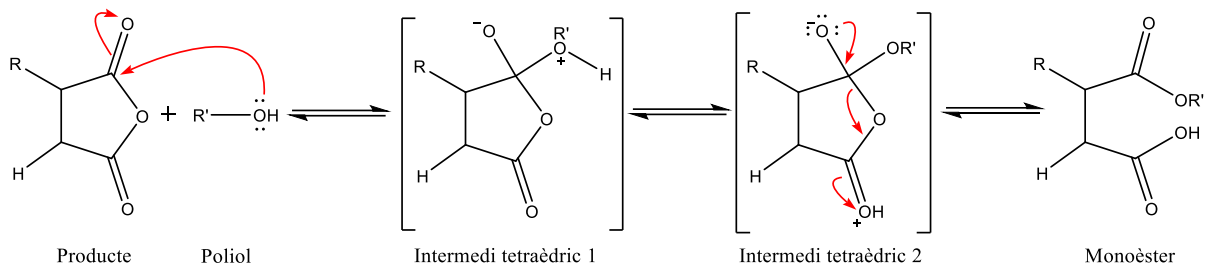
Figura 3. Orbitals participants en la reacció d'Alder-Ene.

Pel que fa a l'esterificació del carbonil, l'anhídrid resultant reacciona amb un polioli per formar un monoèster o dièster mitjançant l'eliminació d'aigua.



Es tracta d'un atac nucleofílic entre un dels oxígens del polioli i un dels carbonis de l'anhidrid, generant un intermedi tetraèdric.¹⁰ A continuació es forma un altre intermedi tetraèdric mitjançant un equilibri àcid-base on hi ha la transferència del protó unit a l'oxigen, a l'oxigen del grup carbonil, convertint l'hidroxi en un bon grup sortint. Per últim, una eliminació permetrà obtenir l'èster amb el substituent R' del polioli inicial i un àcid carboxílic després de perdre el protó i expulsar aigua.⁶

Si l'aigua que es produeix es va destil·lant al reactor, la reacció continua, amb un altre atac nucleofilic del polioli a l'àcid carboxílic, generant un dièster.



5.2 CÀLCUL DE BENEFICIS

És important saber que implicarà aquest canvi a l'empresa, ja que un dels objectius és la millora continua, i reporta els beneficis obtinguts en els diferents projectes de millora que es realitzen any rere any. Per això es fa un estudi sobre els beneficis que comportarà a nivell econòmic, d'estalvi de temps i mediambiental.

Abans de portar a cap el projecte, s'ha de fer una estimació del benefici que pot comportar, per tal d'avaluar si els esforços a invertir estaran retribuïts pel benefici que aportarà el projecte.

Per a fer-ho possible es necessari saber en quantes mostres d'aquests productes s'ha analitzat el SAPO, tenint en compte la seva etapa i mes de realització.

A més, sabent la quantitat de cada reactiu que s'utilitza per a cada mostra i el temps invertit en cada cas, tant al fer el SAPO com si es fes pel NIR, es pot fer una comparació. En la taula 2 adjunta a continuació es mostra el cost per l'anàlisi convencional descrit a la instrucció com per l'anàlisi pel NIR.

Taula 2. Cost per reactiu i total per mostra en l'anàlisi convencional i del material pel NIR.

Reactiu	Gastat	Suma gastat	Densitat (g/cm ³)	Preu	Cost (€)
Iso-butanol	50ml · 5	0,25 l		36,4€/2,5l 14,56 €/l	3,64
Hidròxid potàssic (0.5N) metanòlic	25ml · 5	0,125 l		12,65€/1l 12,65 €/l	1,58
Àcid clorhídric (0.5N)	25ml · 5	0,125 l		88,86€/10l 8,89 €/l	1,11
Fenoltaleïna	1ml · 5	6,3 g	1,26	54,18€/100g 0,54 €/g	3,41
TOTAL		0,505 l	(només líquids)		9,75 €

Material	Preu	Cost (€)
Vial	130,69€/1000u	0,13069

Pel càlcul, s'han tingut en compte les variacions en els reactius a utilitzar segons el producte, que es poden veure reflectides a la taula 3. Per tal de tenir uns resultats estimats, s'estableix el temps igual en tots els casos, unes 3h d'anàlisi per obtenir un resultat esperat, ja que hi ha factors externs que poden fer variar el temps i és difícil calcular-los de manera exacte en totes les mostres.

Taula 3. Volum de reactius gastat i cost per mostra segons el producte.

Reactiu	Gastat (l)	Cost (€)
A	0,555	10,31
B	0,555	10,31
C	0,505	9,75
D	0,505	9,75
E	0,505	9,75
F	0,505	9,75
G	0,330	5,57
H	0,330	5,57
I	0,330	5,57

A més, també es tindrà en compte què comporta aquest canvi a producció, ja que podran seguir avançant en la reacció més ràpid i per tant obtenint més producte en menys temps, és a dir, s'observarà un canvi en la productivitat del procés. Per trobar aquest valor, es relaciona la mida del lot amb el temps d'operació, tenint en compte el temps d'analítica.

$$Productivitat \left(\frac{kg}{h} \right) = N \times \frac{Mida \text{ lot}}{Temps \text{ de reacció}}$$

On:

N: nombre de mostres

Mida lot: kg per lot de producte obtingut

Temps de reacció: hores per procés

A l'empresa s'ha establert per a tots els casos un temps promig per tenir una visió més real sobre el temps guanyat per operació al canviar el mètode. Tot i que en cada procés s'estalvien més de dos hores, hi ha altres factors que poden fer variar aquest temps, referents a producció. Per tant, el temps establert d'estalvi son 35 minuts per producte final envasat.

$$Productivitat \text{ NIR} \left(\frac{kg}{h} \right) = N \times \left[\frac{Mida \text{ lot}}{Temps \text{ de reacció} - \frac{35}{60}} \right]$$

En la taula 4 es mostra la mida i el temps per producte per l'anàlisi del NIR amb els 35 minuts menys.

Taula 4. Productivitat de cada producte segons la mida i el temps de l'operació.

Producte	Mida lot (kg)	Temps de reacció (h)	Productivitat (kg/h)
A	21500	71,42	301,05
B	900	71,42	12,60
C	9900	71,42	138,62
D	19800	49,42	400,67
E	19000	73,42	258,80
F	9900	89,42	110,72
G	8700	91,42	95,17
H	13975	71,42	195,68
I	8900	88,42	100,66

5.3 PRESA DE MOSTRES

Per tal d'obtenir el màxim nombre de resultats possibles i fer més representatiu el mètode, cal un bon estudi previ de les mostres per saber quins productes hi ha, en quines etapes es divideix cada producte, i quantes mostres de cada es tenen.

Les mostres que arriben al laboratori es divideixen entre mostres de procés, entre etapa i etapa, i les mostres de producte acabat. Aquestes últimes també es poden dividir entre mostres Reals i mostres de Consum segons si son per clients o per consum intern.

Per poder trobar tots aquests valors, es fan servir les bases de dades de les que disposa Clariant. Mitjançant la base de dades d'assessorament de qualitat, es poden obtenir totes les mostres analitzades al laboratori de cada producte amb els seus respectius resultats. A més, hi ha una carpeta virtual centrada en l'anàlisi tradicional de l'índex de saponificació, que es pot fer servir per comprovar resultats.

En el cas dels espectres, es poden trobar tots dins una carpeta on es van emmagatzemant al exportar els espectres des de l'equip. Tot i així moltes vegades falten alguns resultats, i la única manera de poder obtenir els seus valors, es tenint la mostra física i realitzant els pertinents anàlisis.

Les mostres de procés es retiren quan s'acaba l'anàlisi, però amb la previsió de desenvolupar un mètode per a aquests productes, s'han guardat algunes mostres per a ser d'utilitat quan es necessitin. Pel que fa als lots, les mostres de producte acabat, s'han d'emmagatzemar obligatòriament. En el cas de les mostres de Consum es poden trobar màxim dels últims 6 mesos, i de les mostres Reals dels últims dos anys.

Mitjançant les bases de dades i els magatzems amb les mostres, es podrà veure com és la variació de mostres, etapes i productes de les que es disposen.

5.4 ANÀLISI TRADICIONAL

L'índex de saponificació, tot i seguir un procediment general redactant en la instrucció de qualitat AC-TH007 de Clariant i amb referències de la ISO 3657 i DIN EN ISO 3681, pot variar segons el producte, esmentades totes les indicacions a l'annex 1 del mètode analític anterior.¹¹

5.4.1 INSTRUMENTAL

- Estufa
- Matrassos (250ml) / pot Schott
- Pipetes Pasteur
- Balança analítica
- Bateria de plaques calefactores
- Dosificador i unitat intercanviable

5.4.2 REACTIUS

- Isobutanol (puresa=99,81%) o solució de toluè (puresa=100%) amb isopropanol (puresa=100%)
- Hidròxid potàssic (0,5N) en metanol
- Solució de fenolftaleïna al 1% en etanol
- Àcid clorhídric (0,5N)

5.4.3 MÈTODE OPERATIU

Efectuar 3 determinacions sobre la mateixa mostra i dos blancs. Utilitzar únicament matrassos nets.

Abans de començar, es necessari que totes les mostres estiguin en estat líquid per poder preparar la dissolució. Es per això que cal deixar-les a l'estufa. Depenent el producte pot necessitar fins a uns 40 minuts, si està sòlida, per facilitar la transferència al matràs.

Primer de tot s'afegeix a l'erlenmeyer amb una precisió mínima de 0,001g el pes de mostra indicat, que canvia segons l'índex esperat. A la taula 2 s'indica el pes en cada cas.

Taula 5. Pes de mostra segons l'índex de saponificació.

Producte	Índex de saponificació esperat (mg KOH/g)	Pes (g)
A	300	0,5
B	300	0,5
C	100	1,5
D	70	2
E	100	2
F	70	2,5
G	490	0,5
H	325	1-1,5
I	400	0,5

En l'esquema 4 es mostra el procediment a seguir per obtenir l'índex de saponificació d'una mostra.

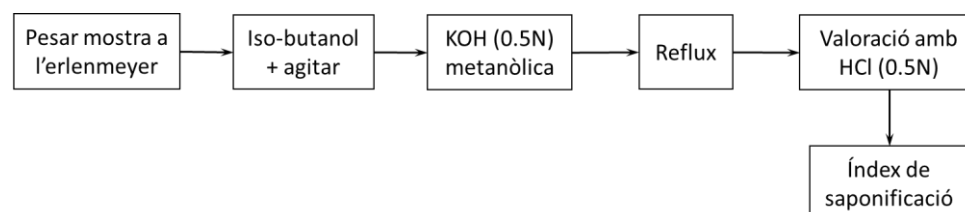


Figura 4. Procediment per l'índex de saponificació.

Primerament es dissol la mostra de l'erlenmeyer amb 50ml d'iso-butanol, es pot col·locar el matràs a una placa calefactorsa per donar temperatura i agitació si el producte s'ha solidificat. En alguns productes hi ha una preparació específica que permet tenir una millor dissolució de la mostra. Quan el producte està completament dissolt s'afegeixen 25ml de KOH metanòlica i es porta a reflux durant 2 hores. Al acabar es deixa refredar fins a temperatura ambient i es valora amb àcid clorhídric (0,5N). Per poder veure el punt final de la valoració, s'afegeixen unes gotes de fenolftaleïna per veure el canvi de color. S'ha de tenir en compte el muntatge del reflux i posar-li atenció a l'extracció de la campana, l'estufa, l'agitació i l'aigua per a que estiguin en bon funcionament durant les 2 hores de reflux.

Tots els productes tenen un color variant entre incolor, blanquinós i marronosos, com es pot observar en la figura 5. En dissoldre's es tornen gaire bé transparents i en afegir la potassa canvien a un color groguenc transparent. En la valoració al afegir la fenolftaleïna passen a fúcsia, i en arribar al punt final tornen a ser incolors.



Figura 5. Aspecte d'alguns dels productes d'estudi.

En l'annex 2 s'adjunten les dades de toxicitat i manipulació dels reactius utilitzats al laboratori per dur a terme aquest anàlisi.

5.5 ANÀLISI PEL NIR

Aquest procediment permetrà determinar l'espectre d'un producte mitjançant l'espectroscòpia de l'infraroig proper. Quan s'implementi un mètode per a aquests productes, a més de generar l'espectre, s'obtindrà un resultat quantitatiu de l'índex de saponificació. Al laboratori de Clariant es disposa d'un espectròmetre FT-NIR TANGO de l'empresa Bruker.¹²

5.5.1 INSTRUMENTAL

- Vial de vidre transparent amb tap
- Pipeta Pasteur
- FT-NIR TANGO
- Escalfador de vials

5.5.2 REACTIUS

Cap

5.5.3 MÈTODE OPERATIU

Omplir el vial de mostra, posar el tap, condicionar-lo a l'escalfador a 70°C, només si es disposa de moltes mostres, i col·locar-ho al instrument per efectuar la mesura.

Per poder guardar correctament l'espectre, cal entrar les dades de la mostra: producte, operació, número de mostra i analista.

Cal tenir en compte que la mostra estigui líquida. Si és molt viscosa costarà més afegir una petita quantitat al vial i és preferible deixar la mostra a l'estufa una estona per garantir una mostra representativa i homogènia.

També s'ha de vigilar que el vial estigui net i sense ningun tipus de contaminació de l'entorn com pot ser pols, la pell o la roba. La presència de contaminació causarà interferències a l'espectre, ja sigui deformant els pics estructurals del producte o generant pics nous. És per això que es preferible fer-ho amb guants, i assegurant-se una bona neteja exterior abans de introduir-lo per eliminar tot allò que pugui afectar a la resposta.

5.6 DESENVOLUPAMENT DEL MÈTODE

Aquest punt és el més important ja que es amb el que s'aconseguirà un mètode a utilitzar. En l'esquema 6 s'observa el procediment a seguir.

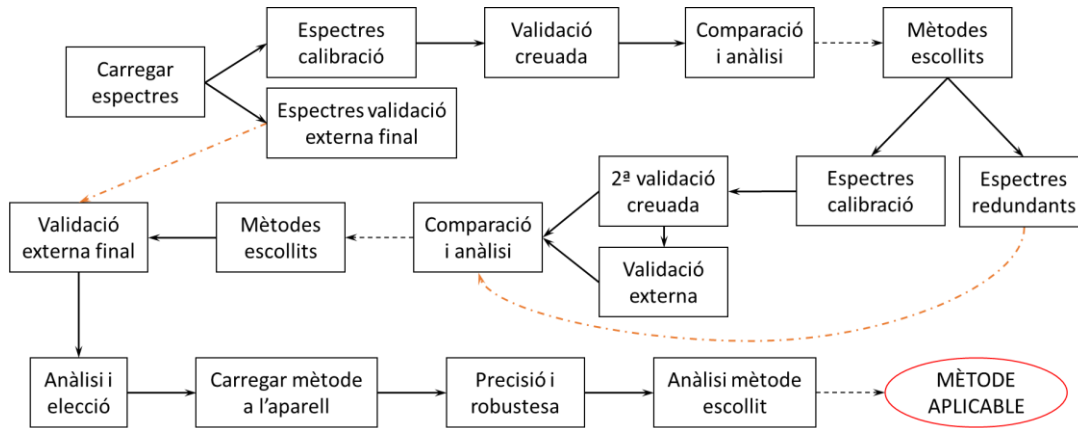


Figura 6. procediment per desenvolupar un mètode mitjançant el software.

El procés es pot dividir en diferents parts.

5.6.1 CREACIÓ DEL MÈTODE NIR

Hi ha dos maneres de generar mètodes: mitjançant una validació creuada (cross-validation) o una validació externa. En el primer cas s'utilitzen els mateixos espectres per la calibració i la validació externa, deixant en cada calibració un espectre fora. En el segon cas es deixa un subgrup de prova fora la calibració per validar el mètode generat.

Per poder obtenir els diferents mètodes, primer de tot s'han de tenir mostres representatives. Es faran dos grups de mostres inicials. El primer grup contindrà la majoria d'elles i servirà per la calibració del mètode. El segon grup constarà d'un percentatge menor, però igualment representatiu, per a poder realitzar una darrera validació amb mostres no utilitzades en la calibració. Mitjançant els components principals s'agafa un 20% de mostres de tot el conjunt per la validació final. S'ha de comprovar que aquests conjunts siguin representatius, d'aquesta manera hi haurà mostres de cada etapa i producte en els dos conjunts a utilitzar.

A partir del conjunt de calibració ja es poden començar a elaborar diferents models per a ser comparats posteriorment. En primer lloc es crearan diferents validacions creuades. Per a poder realitzar l'optimització s'escull el rang de l'espectre amb el que treballarà el mètode i els possibles pretractaments. Per decisió interna, sempre es podran aplicar tots els pretractaments menys l'eliminació de desnivell constant i sostracció de línia recta, ja que a l'aplicar aquests pretractaments el mètode és menys robust. Variant l'amplada del rang o regions de l'espectre a avaluar, es podran obtenir diferents mètodes.

Una vegada escollides les regions, el software optimitza, donant diferents opcions de model, segons el RMSECV, el rang, les regions finals utilitzades i el pretractament aplicat. S'ha d'escollir una de les optimitzacions per a realitzar el model. Sempre s'escollirà la opció amb menor RMSECV. En el cas que hi hagués més d'un model amb igual RMSECV s'escolliria el menor rang, encara que es poden provar les dues opcions i comparar resultats.

D'aquesta manera s'obtindrà un model optimitzat. En primer lloc es podrà observar el gràfic on es representa el valor real respecte el predit de cada espectre. En aquest gràfic es donen marcats els outliers que considera el software. Manualment es poden eliminar i tornar a optimitzar sense aquests espectres per restablir el model.

Un cop exclosos tots aquells espectres pertinents, i obtenint uns bons paràmetres del model, es guarda el mètode per poder-lo comparar i validar posteriorment amb els altres creats.

A partir de les validacions creuades establertes, es poden seguir dos camins. Mitjançant els components principals es poden obtenir els espectres redundants que conté el model. A partir dels mètodes inicials escollits, s'eliminarà un subgrup dels redundants i es tornarà a optimitzar per obtenir una altre validació creuada. D'aquesta manera s'intenta que el model sigui més precís i que els espectres redundants no tinguin pes, fent que la informació sigui el més representativa possible respecte als diferents productes i etapes.

Per altra banda, a partir d'aquestes validacions creuades inicials i els models establerts sense els redundants, es pot seguir amb l'altre manera de crear mètodes: la validació externa. En aquest cas, i amb l'ajuda dels components principals, s'estableix un subgrup de prova. Només s'ha d'escollir el percentatge d'espectres que es volen i el software divideix. De la mateixa manera el software mostra el model creat.

En els dos casos s'han de tenir en compte les mostres redundants i decidir si s'exclouen del model o no.

5.6.2 VALIDACIÓ DEL MÈTODE

Un cop generats els mètodes, ja siguin de validació creuada o externa, primer es fa una prova amb els mateixos espectres fets servir per generar el mètode i avaluar els resultats del SAPO, comparant els resultats predits amb els reals. En aquesta comparació també cal fixar-se en els paràmetres REMSECV o REMSEP, rang, R^2 i RPD. Aquesta prova aporta una estimació dels resultats i ajudarà en l'elecció dels mètodes amb millors paràmetres per la validació externa.

A continuació, es validen els mètodes amb una 2a validació externa, fent servir els espectres que no s'han utilitzat en la creació del mètode i observant així el valor del SAPO obtingut i els seus paràmetres.

Amb tots els paràmetres i resultats obtinguts en cadascun dels mètodes i les seves validacions, s'haurà d'escollir el mètode final que s'establirà a l'instrument.

Un cop preparat el mètode a l'instrument, per validar el bon funcionament, s'estudia la precisió i robustesa. Tot i que hi ha molts paràmetres amb els que es pot validar un mètode analític, com poden ser la repetibilitat, especificitat, linealitat, reproductibilitat, etc.¹³, Clariant considera que amb aquests dos paràmetres, precisió i robustesa, és suficient per validar aquests mètodes del NIR.

Les dos proves es fan a partir de la mateixa mostra. Com que s'utilitzen 9 productes diferents, es decideix fer la prova per a dos mostres diferents. S'agafa un producte representatiu del conjunt a un dels extrems de la recta, tenint en compte que la mostra no sigui el límit. I una mostra d'un producte que es trobi pel centre del gràfic. D'aquesta manera es pot comparar i comprovar si el mètode es adient en els dos casos o hi ha variacions segons el producte i els resultats.

5.6.2.1 Precisió

Es preparen 10 vials de la mateixa mostra. És important tenir els vials ordenats del 1 al 10. Es duran a terme 2 mesures de cada vial, cada mesura amb diferent ordre, a l'atzar i a 70°C, per evitar errors acumulatius.

5.6.2.2 Robustesa

Per a la robustesa s'utilitzaran els mateixos vials que a la precisió i es farà una mesura a 65°C i una altra a 75°C, també en ordre aleatori tot i que en aquest cas la importància està en la temperatura.

És important que totes les mesures es facin el mateix dia, amb els mateixos 10 vials. En cas de no ser possible, es poden separar les mostres de precisió i les de robustesa. D'aquesta manera a la robustesa caldrà fer una altra mesura a 70°C, ja que no es poden reutilitzar els resultats de la precisió, per evitar el factor del temps coma possible factor de discrepància en els resultats.

Amb els espectres obtinguts en cada cas i a partir del software, s'obtenen els valors predits i es poden trobar així la diferència màxima entre els valors, la desviació estàndard i la desviació estàndard relativa. Si la relativa és menor al 2% es considera que s'han obtingut bons resultats i que per tant es pot aplicar el mètode a noves mostres.

5.6.3 POSADA EN MARXA

Per poder establir el nou mètode al laboratori, una vegada validat el model, cal tenir per escrit el procediment i resultats obtinguts: mètode analític. En ella es mostren tots els espectres utilitzats, amb els seus respectius valors tan reals com predits i les gràfiques finals del mètode, tant de calibració com de prova. També s'afegeix l'estudi de precisió i robustesa, i per últim les mostres de la validació externa final que mostren els valors obtinguts amb el mètode.

A més a més, també s'ha de realitzar una petita xerrada a tots aquells analistes i tècnics del laboratori que faran servir el mètode. Caldrà doncs redactar de forma resumida com es diu el mètode, per a quins productes es pot fer servir i els aspectes a tenir en compte. Per últim, s'haurà de substituir al sistema de qualitat (software de qualitat) el mètode antic pel nou, per no generar confusió i recollir els resultats a partir del nou mètode.

6 RESULTATS

6.1 AVALUACIÓ DE BENEFICIS

A partir de les mostres dels productes a estudiar, en les que s'ha analitzat un índex de saponificació, i els costos per mostra presentats en el punt 5.2, es troben les despeses anuals i es poden comparar amb el que es gastaria en l'anàlisi del NIR pel mateix nombre de mostres. En la taula 6 es presenten les mostres per producte i el total del cost, del volum de reactiu, del temps d'anàlisi i de la productivitat que s'inverteix de forma anual en els anàlisis de saponificació.

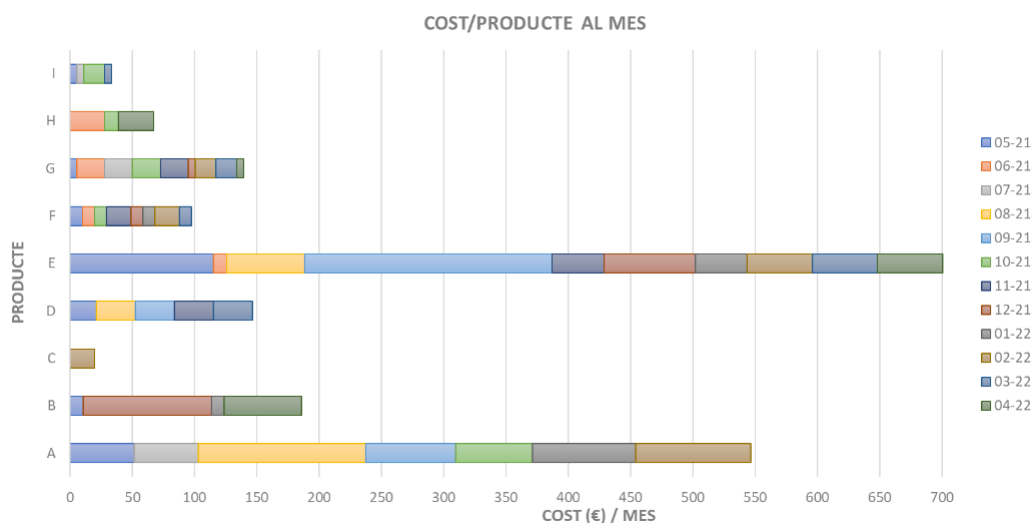
Taula 6. Despeses anuals per producte.

Producte	Total mostres	Cost (€)	Reactiu (l)	Anàlisi (h)	Productivitat (kg/h)
A	53	546,58	29,42	167,83	5076,39
B	18	185,63	9,99	57,00	50,00
C	2	19,49	1,01	6,33	137,50
D	14	146,33	11,62	44,33	1980,00
E	67	700,32	55,61	212,17	3337,84
F	11	107,20	5,56	34,83	1320,00
G	25	139,15	8,25	79,17	1229,35
H	12	66,79	6,06	38,00	400,00
I	6	33,40	1,98	19,00	776,39
TOTAL	208	1944,89	129,49	658,67	14307,46

Per veure com han sigut les despeses econòmiques de manera mensual i per producte, es representaran en la gràfica 2. Cada mes es representa d'un color, i les despeses es van acumulant a la fila del producte fins arribar al cost total anual, quantificat també en la taula 6.

Es pot observar quins son els mesos en els que s'ha produït més i, consegüentment s'han produït més despeses en el temps, reactiu i cost. Destaquen a l'alça maig, agost, setembre i febrer. Contràriament, juny i juliol son els mesos en que la producció ha sigut més baixa.

Pel que fa a productes, clarament hi ha una producció major dels productes A i E. També destaca el producte C i la seva baixa producció, ja que només s'ha dut a terme el mes de febrer.



Gràfica 2. Cost per producte al mes.

A partir d'aquests valors trobats, i estimant les despeses que hi hauria en el cas d'utilitzar el nou mètode pel NIR, es veuran els beneficis que s'obtinran, i es podrà concloure si realment és un canvi beneficiós per l'empresa i cal invertir en hores pel desenvolupament del mètode.

En la taula 7 es mostren les despeses de cada metodologia i l'estalvi que generaria la implantació.

Taula 7. Estalvi al fer canvi de metodologia.

	Cost (€)	Reactiu (l)	Anàlisi (h)	Productivitat (kg/h)
SAPO	1944,89	129,49	658,67	0
NIR	27,18	0	69,33	14425,79
Estalvi	1917,70	129,49	589,33	14425,79

Fàcilment es pot veure com hi ha una millora en els 4 nivells avaluats. Es pot extreure que en aplicar un nou mètode pel NIR, s'estalviarien uns 1900€ anuals, xifra que es pot invertir en la millora d'altres aspectes de l'empresa. Pel que fa al reactiu utilitzat, el fet de no necessitar-ne cap pel NIR, provocaria una millora mediambiental, un dels objectius claus de l'empresa, ja que aquests reactius són molt contaminants. També s'aconseguirien unes 590 hores més per realitzar altres anàlisis que permetrien avançar altres mostres i per tant poder augmentar relativament la producció d'altres productes. Per últim, es podrien arribar a fabricar cada hora 14000kg de producte de més i, per tant, s'augmentaria en 1 operació més cada hora.

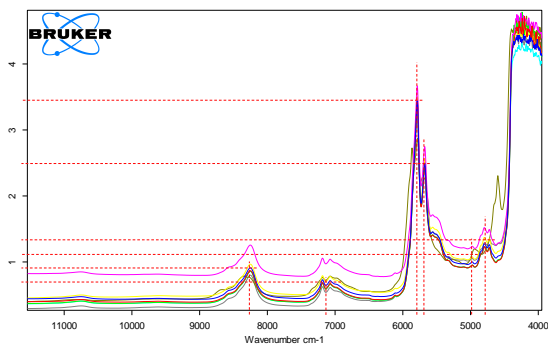
Es pot dir que l'avaluació de beneficis ha permès demostrar que el desenvolupament d'aquest nou mètode millorarà significativament la producció, disminuirà el cost i temps d'anàlisi, i augmentarà la responsabilitat mediambiental de l'empresa.

Un cop implantat el mètode en el Control de Qualitat, s'ha de seguir l'evolució del projecte per tal de fer el càlcul real de beneficis que obté l'empresa.

6.2 ZONES ESPECTRALS

Mitjançant les estructures finals dels productes a avaluar, i els seus respectius espectres, es poden relacionar els diferents pics amb els grups funcionals. Representant els espectres de cada producte per separat s'identificarà cada pic.

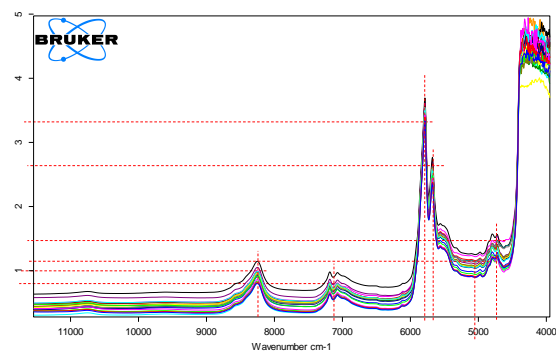
Gràfica 3. Espectre del producte A.



Taula 8. Assignació de pics del producte A.

	N. ona	Abs.	Assignació
1	8250	0,9	-CH ₂ 2n sobretò
2	7150	0,5	Combinacions -CH ₂ -OH lliure 1r sobretò
3	5650	3,5	-CH ₃ , -CH ₂ , -CH 1r sobretò
4	5750	2,5	-CH ₃ , -CH ₂ , -CH 1r sobretò
5	5000	1,1	Combinacions H ₂ O COOH i COOR 2n sobretò
6	4750	1,4	Combinacions -OH lliure

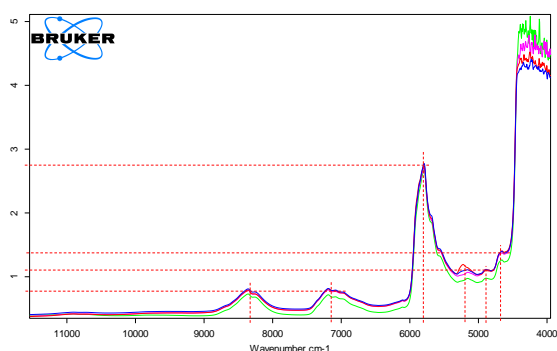
Gràfica 4. Espectre del producte B.



Taula 9. Assignació de pics del producte B.

	N. ona	Abs.	Assignació
1	8250	0,6	-CH ₂ 2n sobretò
2	7150	0,9	Combinacions -CH ₂ -OH lliure 1r sobretò
3	5650	3,2	-CH ₃ , -CH ₂ , -CH 1r sobretò
4	5750	2,6	-CH ₃ , -CH ₂ , -CH 1r sobretò
5	5000	1,2	Combinacions H ₂ O COOH i COOR 2n sobretò
6	4750	1,5	Combinacions -OH lliure

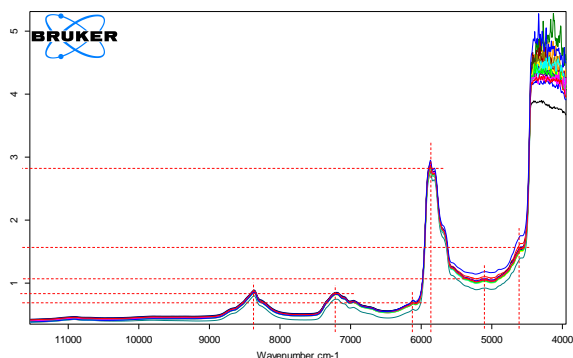
Gràfica 5. Espectre del producte C.



Taula 10. Assignació de pics del producte C.

	N. ona	Abs.	Assignació
1	8350	0,7	-CH ₃ , -CH ₂ , -CH 2n sobretò
2	7200	0,7	Combinacions H ₂ O
3	6100	0,5	C=C 1r sobretò
4	5900	2,95	C=C 1r sobretò CH aromàtic 1r sobretò

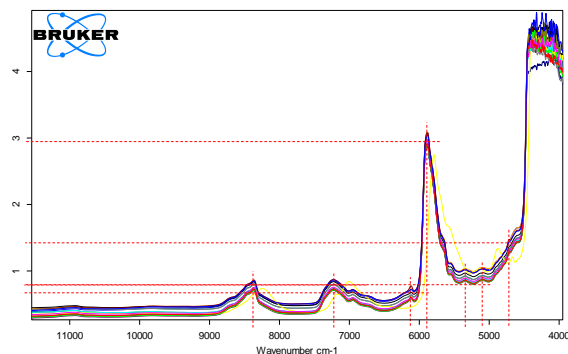
Gràfica 6. Espectre del producte D.



Taula 11. Assignació de pics del producte D.

	N. ona	Abs.	Assignació
1	8350	0,8	-CH ₃ , -CH ₂ , -CH 2n sobretò
2	7200	0,8	Combinacions H ₂ O
3	6150	0,5	C=C 1r sobretò
4	5850	2,8	-CH ₃ 1r sobretò
5	5100	1,1	Combinacions H ₂ O COOH i COOR 2n sobretò
6	4600	1,6	Combinacions C=C

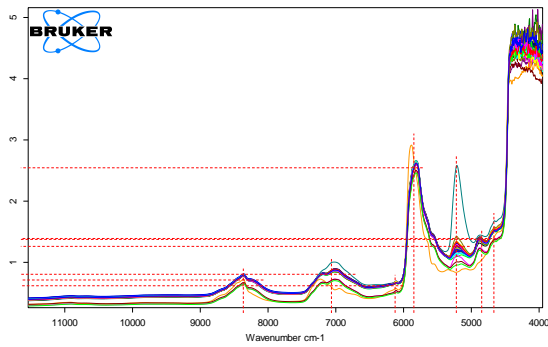
Gràfica 7. Espectre del producte E.



Taula 12. Assignació de pics del producte E.

	N. ona	Abs.	Assignació
1	8400	0,6	-CH ₃ , -CH ₂ , -CH 2n sobretò
2	7100	0,6	Combinacions -CH ₂ -OH lliure 1r sobretò
3	5750	2,8	-CH ₃ 1r sobretò
4	5250	1,1	COOH i COOR 2n sobretò
5	4800	1,1	Combinacions -OH lliure
6	4650	1,4	Combinacions C=C

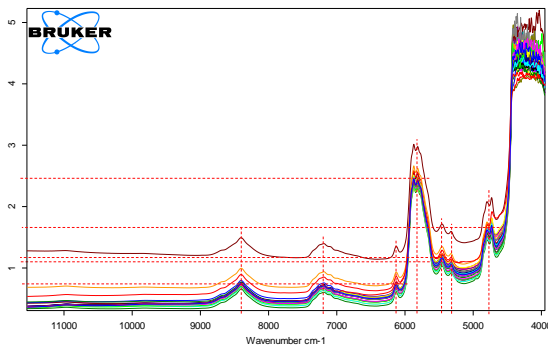
Gràfica 8. Espectre del producte F.



Taula 13. Assignació de pics del producte F.

	N. ona	Abs.	Assignació
1	8400	0,5	-CH ₃ , -CH ₂ , -CH 2n sobretò
2	7100	0,7	Combinacions -CH ₂ -OH lliure 1r sobretò
3	5800	2,6	-CH ₃ 1r sobretò
4	5300	1,3	COOH i COOR 2n sobretò
5	4800	1,4	Combinacions -OH lliure
6	4650	1,6	Combinacions C=C

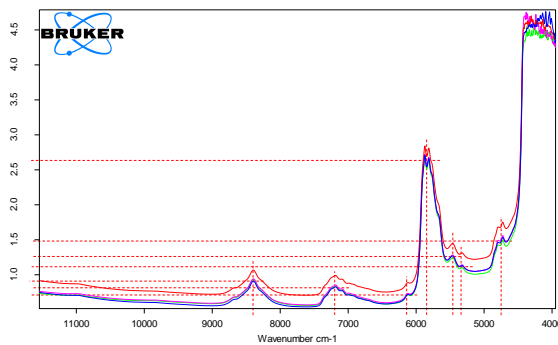
Gràfica 9. Espectre del producte G.



Taula 14. Assignació de pics del producte G.

	N. ona	Abs.	Assignació
1	8400	0,6	-CH ₃ , -CH ₂ , -CH 2n sobretò
2	7200	0,6	Combinacions H ₂ O
3	6100	0,6	C=C 1r sobretò
4	5800	2,5	-CH ₃ 1r sobretò
5	5500	1,2	-CH ₂ 1r sobretò
6	5400	1,1	-CH ₂ 1r sobretò
7	4800	1,6	Combinacions -OH lliure

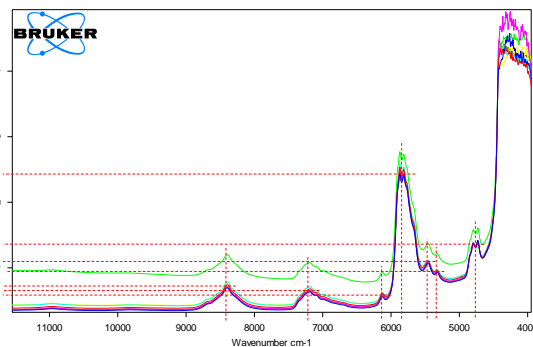
Gràfica 10. Espectre del producte H.



Taula 15. Assignació de pics del producte H.

	N. ona	Abs.	Assignació
1	8400	0,6	-CH ₃ , -CH ₂ , -CH 2n sobretò
2	7200	0,5	Combinacions H ₂ O
3	6100	0,4	C=C 1r sobretò
4	5800	2,5	-CH ₃ 1r sobretò
5	5500	1,1	-CH ₂ 1r sobretò
6	5400	0,95	-CH ₂ 1r sobretò
7	4800	1,4	Combinacions -OH lliure

Gràfica 11. Espectre del producte I.



Taula 16. Assignació de pics del producte I.

	N. ona	Abs.	Assignació
1	8400	0,9	-CH ₃ , -CH ₂ , -CH 2n sobretò
2	7200	0,8	Combinacions H ₂ O
3	6100	0,7	C=C 1r sobretò
4	5800	2,6	-CH ₃ 1r sobretò
5	5500	1,3	-CH ₂ 1r sobretò
6	5400	1,1	-CH ₂ 1r sobretò
7	4700	1,5	Combinacions -OH lliure

Mitjançant l'annex 1 amb les taules d'assignació de pics i interpretant els diferents resultats, es poden interpretar els diferents espectres.¹⁴

Tots els espectres contenen pics de -CH, però no en tots apareixen pics pertinents a l'aigua, l'alcohol lliure o els dobles enllaços. Tot i aquesta caracterització, per poder realitzar els mètodes cal fixar-se en el nombre d'ona que comprenen aquests pics no presents en tots els productes i que, per tant, faran variar la resposta. A més, tots tenen absorbàncies diferents d'acord amb la seva estructura i per tant també ajudarà en la seva quantificació.

Caldrà donar més atenció a la zona que compren des de 6500 a 4500nm, ja que els dos pics a nombre d'ona més elevat son comuns en tots els productes i a nombre menor de 4500nm es presenta el soroll, que si s'inclou al model ja no serà representatiu i s'obtindran resultats erronis, així que aquest rang pot comprendre la majoria d'informació dels productes per relacionar-lo amb el seu índex de saponificació. Aquesta zona compren els enllaços C=C, -OH, -CH, COOH i COOR, podent comparar així aquells productes que, per exemple, disposen d'un àcid carboxílic o èster, o aquells amb un alcohol lliure.

6.3 PRESA DE MOSTRES

Després de recopilar tots els valors de les bases de dades, i realitzar els anàlisis amb les mostres emmagatzemades de les quals no hi havia resultat numèric, es va omplir una taula per poder saber quantes mostres hi havia de cada producte i més concretament de cada etapa. A partir de la taula 17 es podran fer els diferents subgrups per a desenvolupar els mètodes.

Taula 17. Distribució de mostres per a desenvolupar el mètode.

Producte	1	2	3	Real	Consum	Total
A	n.d.	10	7	n.d.	n.d.	17
B	n.d.	16	9	17	n.d.	42
C	n.d.	n.d.	1	4	n.d.	5
D	7	n.d.	n.d.	15	n.d.	22
E	4	11	n.d.	8	4	27
F	n.d.	n.d.	n.d.	42	n.d.	42
G	n.d.	18	n.d.	24	n.d.	42
H	n.d.	n.d.	4	n.d.	n.d.	4
I	n.d.	7	n.d.	6	n.d.	13

214

"n.d.": no determinat. No es realitza l'anàlisi en aquestes etapes.

Tal com es veu a la taula, en els productes A i H no es fa l'anàlisi del producte acabat i per tant només hi haurà resultats de les mostres de procés. En el cas del C, es disposa només de 5 mostres totals. És un número bastant baix que podria no ser significatiu per a pertànyer a un model. Succeeix el mateix amb el H on només es troben 4 mostres. En els dos casos es començarà incloent aquests productes al mètode i al finalitzar s'analitzarà si s'obtenen bons resultats, necessiten un temps de prova per validar-se o no son representatius en el mètode establert. Per considerar que un mètode és representatiu per a un producte, es necessiten mínim 10 mostres pel desenvolupament, tot i que afegint inicialment aquests dos productes es podrà veure el seu comportament i prendre una decisió a partir dels resultats.

Per últim, s'observa com el E és l'únic producte que s'utilitza pel consum intern, i per tant se li realitza un anàlisi abans de ser utilitzat com a reactiu en un altre procés de l'empresa. En els altres casos són per a clients externs i abans d'enviar-los als seus destinataris es faran al laboratori diferents anàlisis per comprovar l'obtenció d'un producte dins els límits i característiques establertes entre consumidor i productor.

6.4 ANÀLISI TRADICIONAL

Per les mostres en les que no s'ha realitzat l'anàlisi ja sigui perquè no era imprescindible per a producció o per obtenir resultats discrepants, s'ha hagut de repetir l'anàlisi, coordinant-se amb el personal del laboratori per no endarrerir la feina dels analistes, degut a la limitació de material i càrrega de feina.

6.5 ANÀLISI PEL NIR

Com que la mesura és molt ràpida, es poden obtenir tots els espectres en poc temps. És important condicionar els vials a l'escalfador per a que estiguin a 70°C. Un cop analitzades totes les mostres, s'exporten tots els espectres per poder començar a desenvolupar el mètode a l'ordinador.

6.6 DESENVOLUPAMENT DEL MÈTODE

Per tal de poder començar a desenvolupar el mètode és necessari disposar de tots els resultats. Una vegada exportats tots els espectres i apuntats tots els valors de l'índex de saponificació, es pot començar amb la calibració.

Els dos subgrups, un amb el que es realitzarà la calibració i l'altre amb el que es farà la validació externa final per validar el model, s'obtenen a partir dels components principals. Es tria un grup del 20% de les mostres mitjançant el software per al subgrup de validació.

A partir d'aquests espectres, es mira si en aquest subgrup hi ha mostres de tots els productes i etapes, ja que ha de ser representatiu. En la taula 18 representada a continuació, es mostren les mostres presents tant en la calibració com en la validació. Es marquen en vermell aquelles etapes en les que s'ha hagut d'afegir alguna mostra per la validació externa ja que sinó aquests productes no es veurien ben representats en el grup.

Es pot comprovar que es disposen de mostres de cadascuna de les etapes menys en el cas de l'etapa 3 del producte C que només es disposa d'una mostra, i pertanyerà al grup de calibració per a tenir representació en el desenvolupament del mètode.

Taula 18. Nombre d'espectres per etapa i producte.

Calibració	1	2	3	Real	Consum	Total
A	n.d.	6	5	n.d.	n.d.	11
B	n.d.	15	4	15	n.d.	34
C	n.d.	n.d.	1	3	n.d.	4
D	4	n.d.	n.d.	12	n.d.	16
E	3	5	n.d.	7	3	18
F	n.d.	n.d.	n.d.	36	n.d.	36
G	n.d.	15	n.d.	21	n.d.	36
H	n.d.	n.d.	2	n.d.	n.d.	2
I	n.d.	4	n.d.	5	n.d.	9

166

2a VE	1	2	3	Real	Consum	Total
A	n.d.	4	2	n.d.	n.d.	6
B	n.d.	1	5	2	n.d.	8
C	n.d.	n.d.	0	1	n.d.	1
D	3	n.d.	n.d.	3	n.d.	6
E	1	6	n.d.	1	1	9
F	n.d.	n.d.	n.d.	6	n.d.	6
G	n.d.	3	n.d.	3	n.d.	6
H	n.d.	n.d.	2	n.d.	n.d.	2
I	n.d.	3	n.d.	1	n.d.	4

48

A partir del subgrup de calibració, es començaran a crear els diferents mètodes variant les regions espectrals. En la taula 19 es mostren els resultats dels mètodes desenvolupats.

Taula 19. Paràmetres dels mètodes creats per validació creuada.

VALIDACIÓ INTERNA															
Component	Nom	Configuració inicial	Outliers	Outliers no eliminats	Redundants	Nº d'espectres	Pretractament	Regions (cm ⁻¹)	Rang concentració	R ²	RMSECV	RPD	Bias	Rang	MD
SAPO	CV1	11545,1-4500	21	-	-	145	Segunda derivada	7500-6800 5028-4600	64,5-501,4	99,93	4,39	37,8	-0,011	10	0,37
SAPO	CV2	9000-4500	22	-	-	144	Primera derivada + SNV	9000-4600	64,5-501,4	99,93	4,49	37,1	-0,022	10	0,36
SAPO	CV3	9000-7700 7700-6400 6400-5550 5550-4980 4980-4500	12	-	-	154	Primera derivada + Sustracción de línea recta	9000-6400 5552-4500	64,5-501,4	99,9	5,11	32,2	0,0646	10	0,34
SAPO	CV4	7800-4600	16	-	-	150	Segunda derivada	7500-6800 5028-4600	64,5-501,4	99,92	4,8	34,4	-0,006	10	0,35
SAPO	CV5	6400-5550 5550-4980 4980-4500	18	-	-	148	Primera derivada + SNV	6400-4500	64,5-501,4	99,9	5,26	32	0,0144	8	0,32
SAPO	CV6	9080-6065 5450-4500	15	-	-	151	Primera derivada + Sustracción de línea recta	9080-7572 5452-4976	64,5-501,4	99,91	4,98	33,4	0,0186	8	0,28
SAPO	CV7	5550-4500	19	-	-	147	Segunda derivada	5452-4500	64,5-501,4	99,88	5,78	28,5	0,158	10	0,33

Pel que fa a les regions de l'espectre a tenir en compte en cada cas, primer es va agafar tot l'espectre, eliminant només el soroll. D'aquesta manera el software, a l'optimitzar, s'ajustarà i treballarà en aquelles zones que aportin més representació i precisió en la creació del mètode. A partir d'aquest es podrà observar quines zones utilitza realment el model i encaminar les regions a utilitzar en els models següents.

Per als mètodes CV2 i CV3, s'escull analitzar la zona espectral que recull tots els pics, però eliminant el soroll i la zona de nombre d'ona més elevada on no es troba cap pic i per tant no implica informació representativa pel mètode. En el cas del CV2, s'han comprés tots els pics en una mateixa regió, en canvi en el CV3, s'han diferenciat 5 zones entre els pics més distanciats. D'aquesta manera es pot analitzar si hi ha diferències en fer-ho d'aquestes dues maneres, o el software dona resultats iguals al valorar la regió global. Es pot comprovar que en el mètode 2 s'han trobat més outliers, però com a conseqüència, els paràmetres són millors que en el mètode 3, tot i comprendre una regió semblant en els dos casos. S'ha de tenir en compte que eliminar mostres també pot donar lloc a obtenir un model menys robust i, per tant, que al aplicar el mètode doni resultats discrepans.

En el cas dels mètode CV4, s'ha eliminat el pic de major nombre d'ona. Com que en el mètode CV1, el software l'havia suprimit de la regió a mesurar, es prova si s'obtenen valors semblants. Els paràmetres obtinguts són prou bons i no es troben masses espectres discrepans en comparació amb alguns dels mètodes anteriors.

Pel mètode CV5, s'eliminen els dos pics més semblants en totes les mostres, entre els 6500 i 8000, i s'agafen els altres pics en 3 regions diferents. D'aquesta manera s'intenta que el mètode presenti més atenció i que tingui en compte més detalls d'aquestes zones on es troben estructures no presents en tots els productes i on hi ha més diferències d'absorbància. S'obtenen paràmetres semblants menys en el rang, amb un valor més baix (8) i que per tant fa servir menys variables.

També es pot mirar el valor d'absorbància, ja que per sobre de 2 pot influir amb interferències i per tant s'eliminarà el pic que sobrepassa aquest valor per comparar resultats. El mètode dona resultats molt bons, incloent un rang de 8.

Per últim, es prova d'agafar la zona espectral que varia més en tots els espectres, compresa entre 5550 i 4500nm. S'observen els pitjors resultats en comparació als models anteriors i es conclou que en aquesta zona no està inclosa tota la informació que fa més representatiu el mètode per a aquests productes.

En general, cal enfocar-se en el rang, ja que només en 2 mètodes té un valor de 8 en comptes de 10 que tenen la majoria. Es tindran en compte per a seguir el desenvolupament. Els valors del R² es troben tots al voltant de 99,9, un valor elevat però insuficient per descartar cap dels mètodes. Poden destacar els models amb el RMSECV menor i RPD major, observant que el mètode 7 té pitjors resultats en aquests paràmetres. També cal fixar-se en el número d'espectres discrepants eliminats en el mètode, el pretractament i les regions utilitzades. En el cas de la concentració en tots els casos té el mateix rang, reflectint que no s'ha eliminat cap mostra dels límits superior i inferior.

Per ajudar en l'elecció dels mètodes més representatius, s'avaluen els espectres emprats en les calibracions amb cadascun dels mètodes per comparar el resultat del SAPO real amb el valor predit pel mètode avaluat. Els valors representats en la taula 20 fan referència a la comparació, no del mètode desenvolupat. Es marquen amb un asterisc a la seva dreta els mètodes amb millors resultats.

Taula 20. Comparació amb els espectres de la validació creuada.

Mètode	Componente	Espectros	RMSEP	Bias	SEP	RPD	Desnivel	Inclinación	Outliers	Fuera rango	%>=5	Dif >=2	
CV1.q2	SAPO	166	13,1	-1,27	13,1	12,7	-0,375	1,007	3	2	22	42	*
CV2.q2	SAPO	166	13,3	-1,35	13,3	12,6	-0,563	1,008	5	2	25	46	*
CV3.q2	SAPO	166	13	-0,909	13	12,8	-0,426	1,005	2	3	23	53	
CV4.q2	SAPO	166	13	-1,37	13	12,8	-0,601	1,008	2	4	18	45	*
CV5.q2	SAPO	166	13,6	-1,71	13,5	12,3	-0,155	1,008	5	4	32	53	*
CV6.q2	SAPO	166	13,3	-0,631	13,4	12,5	-0,625	1005	3	2	33	59	*
CV7.q2	SAPO	166	14,3	0,155	14,3	11,7	-0,965	1,003	3	10	40	61	

En els casos de RMSEP, Bias, SEP i RPD la majoria de valors son semblants i només hi ha diferència més significativa amb el CV7. El desnivell s'ha de comparar amb els índexs de saponificació que s'usen. En aquests productes varia entre 60 i 500 i, per tant, valors menors a 1 com els que es troben son mínims i no mostra diferència en cap dels mètodes creats. En la inclinació també s'obtenen resultats semblants, presentant una bona recta en tots els casos.

Fixant-se en els espectres discrepants i fora de rang, només destaca els 10 fora de rang del CV7, però en els altres casos hi ha un nombre semblant. Es podria prestar atenció amb el CV5 ja que té els dos valors una mica més elevats, però no serviria per menysprear el mètode.

Els factors de percentatge i diferència s'han trobat mitjançant els valors reals i predits del mètode en cada cas. El percentatge es calcula a partir de la diferència: $\% = \frac{|Valor\ real - Valor\ predit|}{Valor\ real} \cdot 100$. Es pot veure com hi ha una diferència significativa entre alguns mètodes. En la columna de percentatge el mètode CV7 té un nombre d'espectres amb un percentatge major a 5 molt més elevat, corroborant que no és el mètode més representatiu i precís. El CV4 és el mètode que millors resultats presenta al fixar-se en el percentatge, presentant també bons resultats en els altres paràmetres.

Els únics mètodes que es deixen fora seran els mètodes CV3 i CV7, fixant-se en els seus resultats. El CV3 només presenta una única diferència inicial amb el CV2, per la separació de les zones espectrals, i com el CV2 dona millors resultats, se seguirà avançant amb aquest. Tot i que el CV5 en la comparació presenta més outliers i espectres fora de rang que altres mètodes, al tenir rang 8 com a paràmetre del mètode no es descartarà i s'observarà com es comporta al seguir treballant en ell.

Amb els mètodes escollits, i abans de realitzar la 2a validació interna i l'externa, es realitza una validació externa amb els espectres que no s'han utilitzat per la calibració. Al veure el seu comportament també es podrà veure el funcionament dels mètodes i escollir si es pot excloure algun més abans de continuar. En la taula 21 es mostren els resultats obtinguts.

Taula 21. Validació externa de les validacions externes amb espectres no utilitzats en la calibració.

Mètode	Componente	Espectros	RMSEP	Bias	SEP	RPD	Desnivell	Inclinació	Outliers	Fuera rango	%>=5
CV1.q2	SAPO	48	9,51	1,39	9,51	16	-0,107	0,994	1	2	18 *
CV2.q2	SAPO	48	32,8	-6,56	32,5	4,69	15,059	0,963	5	0	19
CV4.q2	SAPO	48	9,1	0,748	9,17	16,6	0,421	0,995	1	2	19 *
CV5.q2	SAPO	48	27,8	-5,81	27,5	5,54	11,291	0,976	4	0	22 *
CV6.q2	SAPO	48	15,2	0,652	15,4	9,92	3,501	0,982	4	2	19 *

En comparació amb el cas anterior, hi ha bastantes diferències entre mètodes en alguns dels paràmetres. De primeres s'eliminarien els CV2 i CV5, ja que presenten pitjors resultats generals, però el CV5 es mantindrà pel rang més baix que presenta en el mètode (taula 19) i veure si es pot millorar.

Amb els 4 mètodes restants, es procedeix a realitzar la 2a validació creuada. En aquest cas mitjançant els components principals s'exclouran de la validació creuada els espectres redundants. Amb aquest pas s'intenta que el model presti més atenció en altres detalls que el facin ser més representatiu. Una vegada eliminats, i sense variar els paràmetres d'optimització es crea el nou mètode.

En la taula 22 es mostren els resultats obtinguts. En la columna d'outliers s'indiquen els espectres discrepants de la 1a validació creuada més els trobats en aquesta 2a optimització. S'observa que en els mètodes CV5.2 i CV6.2 hi ha més espectres redundants i per tant menys utilitzats en la calibració.

Taula 22. Resultats dels nous mètodes mitjançant una validació creuada.

CV prèvia	Nom	Outliers	Outliers no eliminats	Redundants	Espectres	2a VALIDACIÓ INTERNA								
						Pretractament	Regions (cm ⁻¹)	Rang concentració	R ²	RMSECV	RPD	Bias	Rang	MD
CV1	CV1.2	22	-	-	125	Primera derivada + SNV	9400-4600	64,5-501,4	99,92	4,47	36,4	-0,0368	10	0,37
CV4	CV4.2	17	-	-	132	Segunda derivada	7500-6800 5028-4600	64,5-501,4	99,91	4,83	33,1	-0,0061	10	0,38
CV5	CV5.2	18	-	-	101	Primera derivada + SNV	6400-4500	64,5-501,4	99,88	5,53	28,5	-0,0037	8	0,41
CV6	CV6.2	19	-	-	102	Segunda derivada	9080-6064 4976-4500	64,5-501,4	99,9	4,86	31,2	0,0875	10	0,45

El rang de concentració segueix sent el més ampli possible. Els valors dels paràmetres obtinguts no han variat gaire respecte als trobats en la 1a validació. Podria ser que aquest pas no fos rellevant per a aquests productes i que amb els mètodes anteriors s'obtinguin millors resultats. A partir d'aquests nous models i els inicials, s'elaboraran les validacions externes representades a la taula 23 per comparar resultats i veure si s'obtenen models millorats.

Sempre es fa amb un 15% d'espectres de prova que el software escull aleatòriament. Al fer els components principals s'utilitzen els factors 1 i 2, ja que son els que representen més informació de les dades. A partir dels dos subgrups i amb els paràmetres dels models inicials, s'optimitza per crear les diferents validacions externes. En cap cas s'han detectat més espectres discrepants.

En alguns dels mètodes s'han millorat els paràmetres però en altres s'han empitjorat. Les validacions externes provinents de la 2a validació creuada contenen millors resultats en tots els paràmetres menys en el cas de la distància de Mahalanobis. Tot i així, aquest valor no és gaire elevat. Destaca el RPD de la VE4.2 que té un valor per sobre de 55.

Taula 23. Resultats de la validació externa.

VALIDACIÓ EXTERNA																
Nom CV	Nom	Factors	Espectres Prova	Espectres Calibració	Espectres Total	% Prova	Outliers	Pretractament	Regions (cm ⁻¹)	Rang concentració	R ²	RMSEP	RPD	Bias	Rang	MD
CV1	VE1	1-2	22	123	145	15	21	Primera derivada + Sustracció de línia recta	9400-3100 5452-4600	64,5-501,4	99,92	4,67	37,9	1,8	10	0,41
CV4	VE4	1-2	23	127	150	15	16	Correcció de dispersió multiplicativa	7500-4500	64,5-501,4	99,86	5,96	27	1,07	10	0,39
CV5	VE5	1-2	23	125	148	16	18	Primera derivada + SNV	6400-4980	64,5-501,4	99,87	6,16	28,1	-1,06	10	0,39
CV6	VE6	1-2	23	128	151	15	15	Primera derivada + SNV	9080-6064	64,5-501,4	99,83	6,33	24,9	1,29	8	0,39
CV1.2	VE1.2	1-2	19	106	125	15	22	Segunda derivada	7500-6100 5452-4600	64,5-501,4	99,95	3,48	52,4	-1,63	10	0,46
CV4.2	VE4.2	1-2	20	112	132	15	17	Segunda derivada	7500-6100 5452-5024	64,5-501,4	99,95	3,6	55,7	-2,12	10	0,44
CV5.2	VE5.2	1-2	16	85	101	16	18	Primera derivada + SNV	6400-4980	64,5-501,4	99,91	4,64	34,7	0,886	9	0,58
CV6.2	VE6.2	1-2	15	86	101	15	19	Primera derivada + Sustracció de línia recta	9080-6064	64,5-501,4	99,96	3,51	47,8	-0,0356	10	0,57

Per poder veure si hi ha algun mètode prou òptim per a implementar al laboratori es realitzarà una nova comparació per avaluar els valors que s'obtindrien amb les mateixes proves utilitzades per l'elaboració dels mètodes. A la taula 24 es marquen en verd aquells mètodes considerats amb millors resultats i per tant amb els que s'elaborarà la validació externa final.

Taula 24. Resultats de la comparació dels diferents mètodes amb els espectres de calibració.

Método	Componente	Espectros	RMSEP	Bias	SEP	RPD	Desnivel	Inclinación	Outliers	Fuera rango	%>=5	Dif >=2	R ²	RMSECV	RPD	Rang
CV1.q2	SAPO	166	13,1	-1,27	13,1	12,7	-0,375	1,007	3	2	22	42	99,93	4,39	37,8	10
CV1.2.q2	SAPO	166	13,3	-1,35	13,3	12,6	-0,45	1,007	5	2	26	49	99,92	4,47	36,4	10
VE1.q2	SAPO	166	13,8	-1,01	13,8	12,1	-2,262	1,013	5	2	33	52	99,92	4,67	37,9	10
VE1.2.q2	SAPO	166	13,3	-1,2	13,3	12,5	0,346	1,004	4	5	26	47	99,95	3,48	52,4	10
CV4.q2	SAPO	166	13	-1,37	13	12,8	-0,601	1,008	2	4	18	45	99,92	4,8	34,4	10
CV4.2.q2	SAPO	166	13	-1,25	13	12,8	-0,435	1,007	2	4	18	46	99,91	4,83	33,1	10
VE4.q2	SAPO	166	14,3	-3,84	13,8	12,1	4,249	0,998	4	4	62	35	99,86	5,96	27	10
VE4.2.q2	SAPO	166	13,2	-1,31	13,2	12,7	0,124	1,005	4	4	28	51	99,95	3,6	55,7	10
CV6.q2	SAPO	166	13,3	-0,631	13,4	12,5	-0,625	1,005	3	2	33	58	99,91	4,98	33,4	8
CV6.2.q2	SAPO	166	13,4	-0,236	13,5	12,4	-1,475	1,007	2	11	37	61	99,9	4,86	31,2	10
VE6.q2	SAPO	166	14,9	1,42	14,9	11,2	5,971	0,97	3	8	53	81	99,83	6,33	24,9	8
VE6.2.q2	SAPO	166	13,7	0,0489	13,7	12,1	-0,611	1,002	4	16	40	69	99,96	3,51	47,8	10
CV5.q2	SAPO	166	13,6	-1,71	13,5	12,3	-0,155	1,008	5	4	32	53	99,9	5,26	32	8
CV5.2.q2	SAPO	166	13,4	-1,03	13,4	12,4	0,16	1,004	2	3	31	61	99,88	5,53	28,5	8
VE5.q2	SAPO	166	14,5	0,184	14,6	11,4	-3,461	1,013	7	24	66	82	99,87	6,16	28,1	10
VE5.2.q2	SAPO	166	13,5	-0,951	13,5	12,4	0,132	1,003	3	11	43	64	99,91	4,64	34,7	9

Es representen també a la dreta tots els paràmetre del mètode, a part dels de la comparació, per facilitar la visualització i l'elecció dels mètodes.

S'han de fer valoracions generals del mètode. En alguns casos es podria escollir un mètode amb menys outliers i espectres fora del rang com podria ser el CV4 i CV4.2, però s'han de mirar els paràmetres del mètode on s'observa un RMSECV major i RPD menor que en el cas del VE4 i VE4.2 tot i tenir algun espectre discrepant més. Entre el VE4 i VE4.2, es poden comparar altres paràmetres com el desnivell, bastant superior en el primer cas que fa el mètode menys representatiu, el R^2 per sota de 99,9 al qual es troben la majoria o un RPD dels més baixos.

De la mateixa manera s'acaben escollint els 4 mètodes en verd de la taula 24 i es realitza la validació externa final, taula 25, per veure el comportament de nous espectres en cadascun dels mètodes.

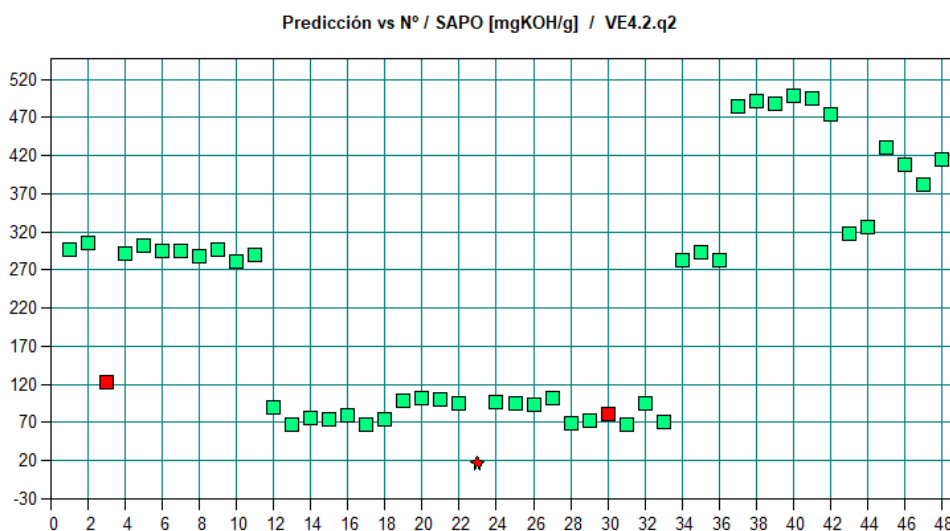
Taula 25. Resultats de la validació externa final.

Método	Componente	Espectros	RMSEP	Bias	SEP	RPD	Desnivell	Inclinación	Outliers	Fuera rango	%>=5	R^2	RMSECV	RPD	Rang
VE1.2.q2	SAPO	48	11,8	2,98	11,6	13,2	-1,801	0,995	4	2	19	99,95	3,48	52,4	10
VE4.2.q2	SAPO	48	13,9	1,62	14	10,9	-2,13	1,002	3	1	17	99,95	3,6	55,7	10
CV5.q2	SAPO	48	27,8	-5,81	27,5	5,54	11,291	0,976	4	0	22	99,9	5,26	32	8
CV6.q2	SAPO	48	15,2	0,652	15,4	9,92	3,501	0,982	4	2	19	99,91	4,98	33,4	8

En aquesta taula 25 es presenten els resultats generats en la validació externa final. S'han obtingut els valors predits dels 48 espectres no utilitzats en cap.

Primerament, destaquen els paràmetres de la validació del mètode CV5. Tot i que no hi ha cap espectre fora del rang, tots els altres valors indiquen que els valors predits son menys precisos i presenten més error en comparació als valors reals.

El que presenta millors resultats i es convertirà en el mètode a implementar al laboratori serà el VE4.2. Tot i tenir rang 10, té un RPD molt elevat i presenta menys espectres discrepants i fora de rang. D'igual manera presenta un percentatge de mostres amb una diferència major a 5 entre el valor real i el predit menor que en els altres casos. En la gràfica 13 es presenta la correlació dels nous espectres en aquest mètode.



Gràfica 13. Correlació de la validació externa final del mètode VE4.2.

En vermell es marquen els 3 espectres outliers i en forma d'estrella l'espectre que es troba fora de rang. En les abscisses segueix l'ordre en que estan ordenats els espectres al mètode. La majoria van en ordre alfabètic i per tant per ordre de productes, però en alguns casos no es compleix així que no s'ha de parar atenció a aquest ordre. Pel contrari, mirant l'eix d'ordenades amb l'índex de saponificació, es poden veure varies zones diferenciades, que representen els diferents productes. Es pot concloure que els 3 espectres a tenir en compte es troben al límit inferior del rang de concentració, tot i ser de 3 productes diferents: A, E i F, sent la mateixa mostra del producte E la que es troba també fora de rang.

Però abans d'escollir com a mètode el VE4.2, es farà un últim estudi d'aquests mètodes per comparar la quantitat de productes i etapes presents en la calibració i en el grup de prova. D'aquesta manera s'identifica si els models son representatius o en alguns casos hi ha productes i/o etapes no representants.

Com a exemple, es presentaran els resultats d'aquest mètode en la taula 26.

Taula 26. Nombre de mostres per etapes i productes en els grups de calibració, prova i validació final.

Calibració	1	2	3	Real	Consum	Total	Prova	1	2	3	Real	Consum	Total	VE final	1	2	3	Real	Consum	Total
A	n.d.	5	5	n.d.	n.d.	10	A	n.d.	0	1	n.d.	n.d.	1	A	n.d.	4	1	n.d.	n.d.	5
B	n.d.	12	4	14	n.d.	30	B	n.d.	3	1	1	n.d.	5	B	n.d.	1	5	2	n.d.	8
C	n.d.	n.d.	1	3	n.d.	4	C	n.d.	n.d.	0	1	n.d.	1	C	n.d.	n.d.	0	1	n.d.	1
D	4	n.d.	n.d.	12	n.d.	16	D	1	n.d.	n.d.	2	n.d.	3	D	3	n.d.	n.d.	3	n.d.	6
E	3	5	n.d.	7	3	18	E	1	0	n.d.	1	0	2	E	1	5	n.d.	1	1	8
F	n.d.	n.d.	n.d.	35	n.d.	35	F	n.d.	n.d.	n.d.	2	n.d.	2	F	n.d.	n.d.	n.d.	5	n.d.	5
G	n.d.	13	n.d.	15	n.d.	28	G	n.d.	3	n.d.	1	n.d.	4	G	n.d.	3	n.d.	3	n.d.	6
H	n.d.	n.d.	0	n.d.	n.d.	0	H	n.d.	n.d.	1	n.d.	n.d.	1	H	n.d.	n.d.	2	n.d.	n.d.	2
I	n.d.	3	n.d.	5	n.d.	8	I	n.d.	1	n.d.	0	n.d.	1	I	n.d.	3	n.d.	1	n.d.	4

149

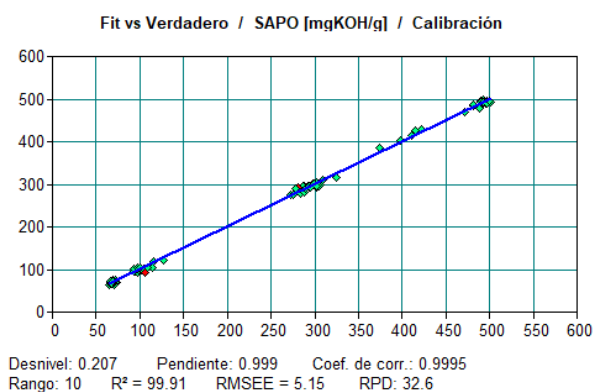
19

41

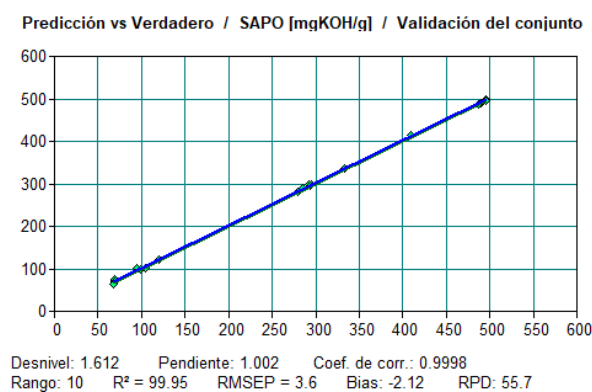
En taronja es marquen aquelles etapes on s'han eliminat un o més espectres discrepants. També es mostra en vermell el producte H on no hi ha cap mostra representada en el model. Tot i així, s'observa que l'espectre del grup de prova i els 2 de la validació externa es troben ben representats dins el model. Per tant, s'haurà de decidir si es manté aquest producte inclòs en el mètode, s'exclou o es deixa de prova per fer un seguiment dels seus resultats amb mostres noves. En aquest cas, els productes es mantindran de prova i a mesura que s'obtinguin noves mostres, s'avaluarà si els productes estan ben representats o s'ha de crear un nou mètode. Caldrà realitzar l'anàlisi convencional i pel NIR, ja que se seguirà donant com a valor real el convencional fins poder confirmar la validació mitjançant el NIR.

En els mètodes VE1.2 i CV5 també s'elimina el producte en la calibració, però en aquests casos també surten com a discrepants els espectres del mateix mètode en el grup de prova (mètode CV1.2) i en la validació externa (mètode CV5). En el cas del mètode CV6, estan tots els productes representats en la calibració, però queden exclosos els espectres de la validació externa del producte C.

A continuació es presenten les gràfiques 14 i 15 del mètode VE4.2 on es pot veure la recta que formen els espectres de calibració, i els espectres de la validació externa en aplicar-li el mètode respectivament.



Gràfica 14. Espectres de calibració del mètode VE4.2.



Gràfica 15. Espectres del conjunt de test del mètode VE4.2.

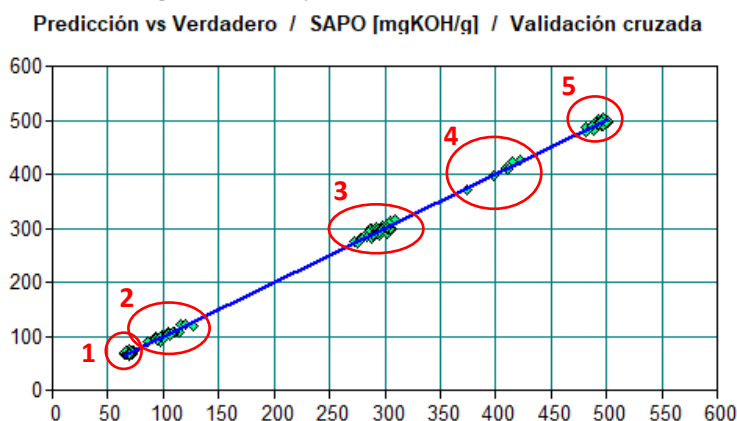
Els paràmetres que es presenten en la gràfica 15 són els que fan referència al mètode creat. Però amb la gràfica de la calibració s'observa com estan distribuïts els diferents espectres.

Cal prestar atenció també a les zones espectrals en les que treballa aquest mètode i relacionar-les amb les diferents estructures químiques dels productes. En el mètode estan implicats els següents grups: -CH₂, -OH, -COOH i -COOR, H₂O i -C=C. Com es veu hi apareixen quasi tots els grups que s'han presentat anteriorment menys les zones -CH i -CH₃. Com són les més semblants en tots els productes, són les de menys importància en el mètode. Es pot dir que les zones del mètode CV4.2 aporten informació sobre tots els grups funcionals dels productes implicats i permeten obtenir bons resultats.

En la gràfica 16, s'aprofitarà la representació de la gràfica de calibració d'un dels mètodes creats per mostrar la recta i els diferents grups amb els que se separen els productes indicats en la taula 27. D'aquesta manera s'observen les zones en les que hi ha més concentració d'espectres o l'amplitud del rang segons la variació entre els valors de les mostres del mateix producte. En el grup 4, referent només al producte I, s'observa com les mostres són més disperses que en el cas del grup 1 que inclou dos productes. Pel que fa a les etapes, no hi ha diferències visuals, és a dir, els resultats es diferencien principalment per productes i no per etapes.

Aquesta distribució és útil si a l'hora de desenvolupar mètodes, s'observa que algun dels productes no es comporta correctament i per tant necessitaria un submodel centrat només en aquell producte, fent referència només al seu rang.

Gràfica 16. Rangs trobats dels productes.



Taula 27. Relació productes-rangs.

Grup	Producte	Rang Nº d'ona
1	D-F	64-74
2	C-E	86-116
3	A-B	270-330
	H	324-334
4	I	374-424
5	G	470-502

Una vegada escollit el mètode VE4.2 i introduït a l'instrument, cal realitzar els anàlisis de precisió i robustesa per acabar de validar el mètode.

Per realitzar aquest estudi s'han agafat dos mostres. La primera d'elles del producte G, ja que es troba en un dels límits i la segona del producte A que es troba al mig de la recta. D'aquesta manera es podrà veure si hi ha diferent afectació dels productes dels extrems de la recta que els del mig, o pel contrari la precisió i robustesa no es veuen afectats o es veuen afectats d'igual forma.

En les taules 28 i 29 es presenta l'ordre en que es van mesurar els vials en cada repetició. En el cas del producte G la precisió i la robustesa es van analitzar en dies diferents i per tant es necessita la mesura de 70°C per fer la robustesa. Pel producte A com es va realitzar el mateix dia s'agafarà la mitjana de les 2 mesures a 70°C per obtenir els valors per la robustesa.

Taula 28. Ordre de mesura de producte G.

	M1	M2	70°C	65°C	75°C
1	3	4	7	5	4
2	6	7	2	8	1
3	1	9	5	2	6
4	7	5	3	4	2
5	4	2	10	1	5
6	10	8	6	7	9
7	9	3	1	10	7
8	2	10	9	3	8
9	8	6	4	6	3
10	5	1	8	9	10

Taula 29. Ordre de mesura del producte A.

	M1	M2	65°C	75°C
1	1	7	4	9
2	4	3	1	6
3	9	6	9	2
4	6	9	5	8
5	5	2	7	4
6	8	5	2	10
7	3	1	10	5
8	7	4	6	3
9	10	8	8	1
10	2	10	3	7

Una vegada obtinguts els espectres de cada mesura, s'apunten en la taula 30 i 31 respectivament els valors d'índex de saponificació obtinguts per poder veure el seu comportament.

Taula 30. Precisió i robustesa mostra producte G.

Mostra	Precisió			Robustesa		
	Promig	Medició 1	Medició 2	70°C	65°C	75°C
1	487,45	487,85	487,05	492,77	493,31	492,33
2	492,25	492,42	492,07	494,45	494,79	492,44
3	496,22	495,70	496,73	487,81	488,63	487,44
4	491,70	492,22	491,17	491,51	493,01	491,24
5	494,34	494,12	494,55	487,74	488,62	486,75
6	487,77	488,00	487,54	489,79	489,45	489,54
7	490,76	490,69	490,82	488,1	489,41	487,31
8	488,69	488,76	488,61	493,78	493,97	492,97
9	488,92	488,84	489,00	495,73	495,35	494,16
10	491,93	491,86	491,99	490,45	490,53	489,31
Mín.	487,45	487,85	487,05	487,74	488,62	486,75
Màx.	496,22	495,70	496,73	495,73	495,35	494,16
Màx-Mín	8,76	7,85	9,68	7,99	6,73	7,41
Promig	491,00	491,05	490,95	491,21	491,71	490,35
Desv. Est.	2,86721	2,68223	3,07112	2,90447	2,64403	2,64299
RSD (%)	0,58%	0,55%	0,63%	0,59%	0,54%	0,54%

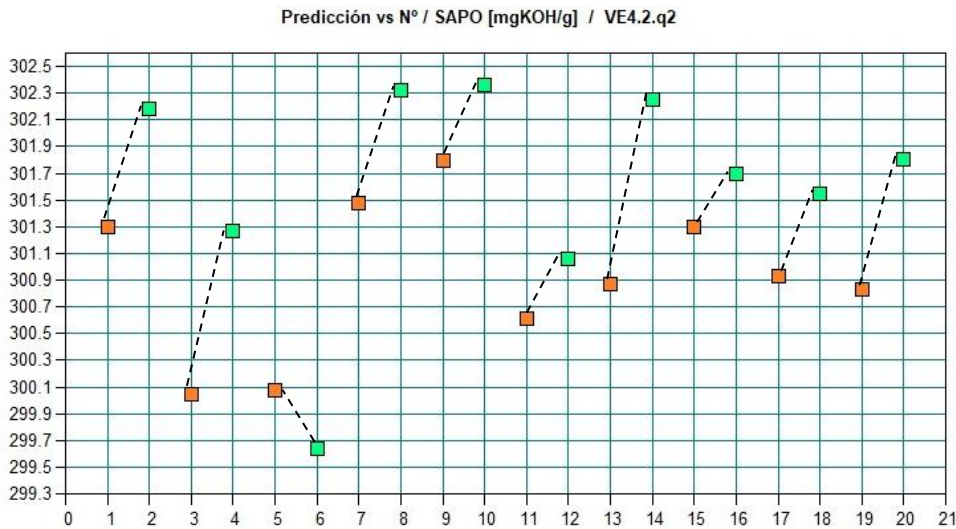
Taula 31. Precisió i robustesa mostra producte A.

Mostra	Precisió			Robustesa		
	Promig	Medició 1	Medició 2	70°C	65°C	75°C
1	301,54	301,71	301,37	301,54	301,3	302,19
2	300,82	300,59	301,05	300,82	300,04	301,27
3	299,82	299,86	299,78	299,82	300,07	299,64
4	301,85	301,84	301,86	301,85	301,47	302,33
5	301,79	302,23	301,34	301,79	301,8	302,36
6	300,54	300,53	300,55	300,54	300,61	301,06
7	301,46	301,5	301,41	301,46	300,87	302,25
8	302,33	302,44	302,21	302,33	301,3	301,7
9	302,00	302,18	301,82	302,00	300,93	301,55
10	301,48	301,38	301,57	301,48	300,83	301,8
Mín.	299,82	299,86	299,78	299,82	300,04	299,64
Màx.	302,33	302,44	302,21	302,33	301,80	302,36
Màx-Mín	2,51	2,58	2,43	2,51	1,76	2,72
Promig	301,36	301,43	301,30	301,36	300,92	301,62
Desv. Est.	0,75659	0,84701	0,70229	0,75659	0,57439	0,82821
RSD (%)	0,25%	0,28%	0,23%	0,25%	0,19%	0,27%

Amb la precisió, es pot extreure que la repetibilitat de l'equip és bona, ja que en els dos casos s'obté un RPD (%) molt inferior a un 2%. Tot i així, hi ha diferències entre els dos productes. En el cas del producte G, en el límit del mètode, es troba un 0,63% que es tradueix a una diferència màxima observada de 9,68mgKOH/g en el resultat de l'índex de saponificació. En canvi pel producte A s'obté un 0,28%, traduït a una diferència de 2,58mgKOH/g en l'índex.

Per la robustesa s'obtenen valors semblants amb l'efecte de la temperatura, amb resultats en els dos casos per sota del 2%. Per al producte G correspon a un RPD de 0,59% amb una diferència de temperatura màxima observada de 7,99mgKOH/g. Per al A el RPD es troba a 0,27%, corresponent a una diferència màxima de 2,72mgKOH/g.

En el producte G es pot veure com els valors a 65°C en la majoria de casos son superiors a 70 i 75°C. En canvi, per al producte A acostuma a augmentar la concentració en pujar la temperatura, tal com es presenta en la gràfica 17 on, per ordre de mostra es representen en taronja les mesures a 65°C i en verd a 75°C. Tot i així, les diferències son mínimes.



Gràfica 17. Índex de saponificació en 10 vials del producte A, a 65 i 75°C.

Es pot concloure que l'equip té bona repetibilitat respecte aquest mètode, tot i que s'observen resultats més precisos en mostres representades a la zona mitja del rang de concentració. Al variar la temperatura tampoc s'obtenen resultats diferenciats, afirmant que no hi ha efecte de la temperatura.

Així, el mètode queda validat i a punt per aplicar al laboratori. Tot i així, es deixarà un temps de prova, és a dir, caldrà fer els dos anàlisis per confirmar el resultat, per veure el seu comportament amb mostres noves. En l'estada no s'ha pogut arribar a aplicar el mètode a l'instrument i no s'ha pogut realitzar l'estudi sobre aquestes noves mostres i els seus resultats.

A més, caldrà tenir en compte aquells productes dels que es disposava poques mostres i que podrien no ser del tot representatives en aquest mètode. Aquests son els productes C, H i I, ja que es disposen menys de 10 mostres a la calibració i no arriben a 5 en la validació externa final. Aquests 3 productes quedaran inclosos al mètode però pendents de validació a mesura que s'analitzin més mostres per poder-les introduir al mètode i augmentar així la seva precisió.

S'ha deixat preparada la instrucció del mètode on s'especifiquin els productes a analitzar, tots els espectres fets servir en la calibració i validació del mètode, així com els resultats obtinguts i l'estudi de precisió i robustesa realitzat.

S'elabora també una xerrada curta per a tots els analistes i tècnics del laboratori per informar l'entrada en funcionament del mètode en mode de validació, que s'hauran d'anar enregistrant els resultats mitjançant ambdós mètodes i explicar per a quins productes es podrà fer servir.

Tot i l'elecció i preparació de documents per al mètode VE4.2, també es guardarà el mètode CV6. Presenta resultats bons i podria substituir al mètode anterior en cas que en el temps de prova no s'obtinguessin els resultats esperats. Caldria realitzar l'estudi de precisió i robustesa i tenir el mètode de prova per comprovar els valors obtinguts. Si en aquest cas tampoc s'obtinguessin bons resultats, caldria veure les raons per les quals no té un bon funcionament: un producte específic, etapes concretes, treballador que realitza l'anàlisi, resultat erroni de l'índex de saponificació pel mètode convencional... Una vegada detectat el problema, si aquest fos pel mètode establert, es prendria la decisió de desenvolupar un altre mètode, eliminar alguns productes d'aquest o realitzar més d'un mètode segons els productes.

6.7 PLANIFICACIÓ

Un cop finalitzat quasi tot el procés, es pot revisar la planificació prèvia al desenvolupament i comparar el previst amb el real.

- **Preparació:** tot i que la major part de la cerca es va fer en la primera setmana tal com estava programada, en tot el període s'han dedicat bastantes hores a buscar i entendre diferents aspectes del projecte.
- **Presa de mostres:** l'obtenció de mostres va ser molt més ràpida i es va poder combinar una part de la cerca bibliogràfica amb la localització de les mostres per començar els anàlisis.
- **Anàlisis:** tot i començar abans del predit, s'ha necessitat més temps per a realitzar tot els anàlisis degut a la falta de material o nius del laboratori.
- **Mètode:** durant aquesta etapa han anat sorgint alguns dubtes que han allargat una mica el procés, sobretot a l'hora d'entendre i comparar paràmetres dels diferents mètodes.
- **Posada en marxa:** degut a l'endarreriment del desenvolupament del mètode, s'ha pogut redactar la instrucció i xerrada, però aquesta no s'ha dut a terme i per tant no s'ha implementat el període de prova del mètode al laboratori.

7 CONCLUSIONS

De l'estudi i desenvolupament d'un mètode comparatiu per la determinació de l'índex de saponificació en productes amb la mateixa química, una reacció d'Alder-Ene entre l'anhídrid maleic i una olefina, es poden extreure les següents conclusions:

- S'ha demostrat que l'espectroscòpia NIR és una bona tècnica per identificar i quantificar productes amb presència d'enllaços C-H i O-H.
- Mitjançant la quimiometria i els seus mètodes es poden relacionar els espectres obtinguts pel NIR amb el seu corresponent índex de saponificació.
- Cal conèixer prèviament de manera detallada el funcionament del software per poder desenvolupar, variar, millorar i validar un mètode. S'ha de ser exigent i invertir temps per tal d'obtenir el millor resultat possible, que implica desenvolupar mètodes òptims i no òptims per poder comparar i triar.
- S'han obtingut diversos mètodes, semblants i amb petites variacions, que també podrien haver-se aplicat al laboratori. Tot i així, s'ha triat el que presenta millors resultats.
- Com que els productes han mostrat una bona resposta i els resultats obtinguts són prou precisos, no cal fer submètodes per a aquests productes.
- La presència de productes amb un número de mostres reduït, no permet assegurar la seva representativitat i caldrà fer un seguiment d'aquests per poder garantir els bons resultats en el mateix mètode o optimitzar el mètode existent amb els espectres nous.
- Tot i la tria d'un mètode, per a alguns productes falta recollir suficients mostres per poder validar-los definitivament. Per als productes amb un nombre de mostres suficients, ja es pot implementar el mètode.
- La planificació prèvia del projecte s'ha complert majoritàriament, tot i que no s'han tingut en compte alguns factors que han acabat endarrerint la feina. Tot i així, ha servit per veure durant l'estada quins passos s'havien de seguir, com s'estava desenvolupant i quins factors s'haguessin pogut predir durant la planificació.
- La implementació del nou mètode suposa l'eliminació de reactius per a realitzar l'anàlisi, que comporta un benefici mediambiental (ja que hi ha reactius molt contaminants), la disminució del cost, l'augment de la productivitat, i conseqüentment, pot comportar beneficis econòmics a l'empresa per l'augment de la productivitat en aquests productes que es fabriquen en el mateix reactor, degut a l'alliberació d'ocupació del reactor.

CONCLUSIONS:

From the study and development of a comparative method for determining the saponification index in products with the same chemistry, an Alder-Ene reaction between maleic anhydride and an olefine, the following conclusions can be drawn:

- NIR spectroscopy has been proved to be a good technique for the identification and quantification of products with presence of C-H and O-H bonds.
- Through chemometrics and their methods, the spectra obtained by the NIR can be related to their corresponding saponification index.
- It is necessary to know in detail the software in order to develop, change, improve and validate a method. Must be demanding and invest time to obtain the best possible result, which involves developing optimal and non-optimal methods to be able to compare and choose.
- Several methods have been obtained, with small variations, which could also have been applied in the lab. Even so, it has been possible to choose the one with the best results and more optimal.
- Since the products have shown a good response and the results obtained are accurate enough, it is not necessary to make submethods for these products.
- The reduced number of samples of some products, does not allow to ensure their representativeness and it will be necessary to monitor them to guarantee the good results in the same method, or optimize the existing method with new spectra.
- Despite the choice of a method, for some product is needed to collect enough sample to be able to validate them definitively. For products with a sufficient number of samples, the method can already be implemented.
- The previous planning has been fulfilled mostly, although some factors that have ended up delaying the work have not been considered. However, it has served to see during the stay what steps should be followed, how it was being developed and which factors could have been predicted in the planning.
- The implementation of the new method involves the elimination of reagents to carry out the analysis, which entails an environmental benefit (since there are very polluting reagents), the decrease in cost, the increase in productivity and, as a result, can bring benefits to the company by increasing productivity in these products that are manufactured in the same reactor, due to the release of the reactor's occupancy.

8 BIBLIOGRAFIA

- (1) Patel, H. J. Near Infrared Spectroscopy: Basic Principles and Use in Tablet Evaluation. *International Journal of Chemical and Life Sciences* **2017**, 6 (2), 2006. <https://doi.org/10.21746/ijcls.2017.2.1>.
- (2) Skoog, D. *Principios de Análisis Fundamental*; 2008.
- (3) Conzen, J.-P. *Multivariate Calibration*, 3d ed.; Boker Optik GmbH, 2014.
- (4) Campos, A. Instrucción de Uso y Control Del NIR, TA-INCE-34. **2019**, Version 1.
- (5) *¿Qué es la saponificación?*.
<https://www.ingenieriaquimicareviews.com/2020/07/saponificacion.html> (accessed 2022-06-09).
- (6) McMurry, J. *Química Orgánica* 7; 2008.
- (7) Nahm, S. H.; Cheng, N. Polymer Sequence Determination. Carbon-13 NMR Method. *F. A. Chain Structure and Conformation of Macromolecules* **1986**, 51 (2), 2320–2327.
- (8) *Alder-Ene Reaction*. <https://www.organic-chemistry.org/namedreactions/alder-ene-reaction.shtm> (accessed 2022-06-09).
- (9) Mikami, K.; Shimizu, M. Asymmetric Ene Reactions in Organic Synthesis.
- (10) *Reacción de anhídridos con alcoholes*. <https://www.quimicaorganica.org/anhidridos/442-reaccion-de-anhidridos-con-alcoholes.html> (accessed 2022-06-09).
- (11) Maldonado, J. M. Índice de Saponificación, AC-TH007. **2018**, Version 4.
- (12) *Espectrómetro FT-NIR TANGO*. Bruker.com. <https://www.bruker.com/es/products-and-solutions/infrared-and-raman/ft-nir-spectrometers/tango-ft-nir-spectrometer.html> (accessed 2022-06-09).
- (13) Guy, R. C. International Conference on Harmonisation. *Encyclopedia of Toxicology: Third Edition* **2014**, 2 (November 1994), 1070–1072. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00861-7>.
- (14) Workman, Jr., J.; Weyer, L. *Practical Guide to Interpretive Near-Infrared Spectroscopy*; 2007. <https://doi.org/10.1201/9781420018318>.
- (15) *Fichas Internacionales de Seguridad Química. FISQ*.
https://www.insst.es/documentacion/coleccion-tes-tecnicas/fisq?p_p_id=es_insst_buscadores_web_BuscadoresMVCPortlet&p_p_lifecycle=1&p_p_state=normal&p_p_mode=view&_es_insst_buscadores_web_BuscadoresMVCPortlet_javax.portlet.action=search&p_auth=irk92ue7 (accessed 2022-06-10).

9 ANNEXOS

ANNEX 1. Taula de les zones espectrals segons els grups funcionals.

Group Frequencies in the Near-Infrared Region

Overtone combination	Wavelength/nm		Wavenumber/cm		Remarks
(1) Groups containing only C and H atoms					
1) -CH₃ methyl					
combination	2275	2285	4400	4380	CH stret.+CH bend.
	1355	1365	7380	7330	2xCH stret.+CH bend.
	1010	1020	9900	9800	2xCH stret.+3xCH bend.
first overtone	1710	1730	5850	5780	first overtone of asym.stret.
	1770	1785	5650	5600	first overtone of sym.stret.
second overtone	1150	1165	8700	8580	second overtone of asym.stret.
	1190	1200	8400	8330	second overtone of sym.stret.
third overtone	870	885	11490	11300	third overtone of asym.stret.
	900	910	11110	10990	third overtone of sym.stret.
2) -CH₂ methylene					
combination	2320	2330	4310	4290	CH stret.+CH bend.
	2305	2315	4340	4320	
	1410	1420	7090	7040	2xCH stret.+CH bend.
	1390	1400	7190	7140	
	1050	1060	9520	9430	
first overtone	1735	1750	5760	5710	first overtone of anti-sym.stret.
	1780	1795	5620	5570	first overtone of sym.stret.
second overtone	1170	1180	8550	8470	second overtone of anti-sym.stret.
	1200	1210	8330	8260	second overtone of sym.stret.
third overtone	885	895	11300	11170	third overtone of anti-sym.stret.
	910	920	10990	10870	third overtone of sym.stret.
3) -CH					
first overtone	1755	1775	5700	5630	
second overtone	1185	1195	8440	8370	
third overtone	900	910	11110	10990	
4) C=C alkenes (vinyl, vinylidene, vinylene)					
combination	2340	2350	4270	4260	CH ₂ stret.+=CH ₂ bend.
	2185	2195	4580	4560	CH ₂ stret.+C=C stret.
	2135	2145	4680	4660	=CH stret.+C=C stret.
first overtone	1675	1695	5970	5900	
	1645	1660	6080	6020	vinyl group
second overtone	1130	1145	8850	8730	
	1110	1120	9010	8930	vinyl group
third overtone	860	870	11630	11490	
	840	850	11900	11760	vinyl group
5) -C≡CH alkynes (ethynyle)					
first overtone	1535	1545	6510	6470	
second overtone	1035	1045	9660	9570	
third overtone	780	790	12820	12660	
6) CH (aromatic)					
combination	1440	1450	6940	6900	2xCH stret.+CH bend.
	1410	1420	7090	7040	2xCH stret.+CH bend.
	1070	1085	9350	9220	2xCH stret.+2xC-C stret.
first overtone	1680	1690	5950	5920	
second overtone	1130	1140	8850	8770	
third overtone	850	860	11760	11630	
(2) O atom containing groups					
7) H₂O					
combination	1930	1940	5180	5150	OH stret.+OH bend.
	1375	1385	7270	7220	OH anti-sym. stret.+OH sym. stret.
first overtone	1450	1460	6900	6850	
second overtone	975	985	10260	10150	
third overtone	740	750	13510	13330	
8) free -OH alcohol					
combination	2060	2090	4850	4780	OH stret.+OH bend.
first overtone	1395	1425	7170	7020	
second overtone	2370	2390	4220	4180	second overtone of OH bend.
	940	955	10640	10470	second overtone of OH stret.
third overtone	730	745	13700	13420	

Group Frequencies in the Near-Infrared Region

Overtone, combination	Wavelength/nm		Waveumber/cm ⁻¹		Remarks
9) bound - OH alcohol					
first overtone	1435	1480	6970	6760	intermolecular hydrogen bond
	1500	1595	6670	6270	intramolecular hydrogen bond
second overtone	980	990	10200	10100	intermolecular hydrogen bond
	1035	1045	9660	9570	intramolecular hydrogen bond
10) COOH carboxylic acids, COOR esters					
second overtone	1890	1920	5290	5210	2xC=O stret. (carboxylic acids)
	1930	1950	5180	5130	2xC=O stret. (esters)
11) C=O ketones					
second overtone		1950		5130	
12) CHO aldehydes					
combination	2190	2210	4570	4520	CH stret. +C=O stret.
13) epoxides					
first overtone	1640	1650	6100	6060	first overtone of CH stret.
(3) N atom containing groups					
14) -NH₂ primary amines					
combination	1970	2010	5080	4980	NH stret +NH bend.
first overtone	1520	1540	6580	6490	first overtone of NH ₂ sym.stret.
	1500	1520	6670	6580	first overtone of NH ₂ anti-sym.stret.
	1450	1480	6900	6760	ArNH ₂
second overtone	1020	1040	9800	9620	second overtone of NH ₂ sym.stret.
	1000	1020	10000	9800	second overtone of NH ₂ anti-sym.stret.
	980	1020	10200	9800	ArNH ₂
third overtone	800	820	12500	12200	third overtone of NH ₂ sym.stret.
	780	800	12820	12500	ArNH ₂
	770	790	12990	12660	third overtone of NH ₂ anti-sym.stret.
15) >NH secondary amines					
first overtone	1490	1545	6710	6470	
second overtone	1010	1040	9900	9620	
16) -CONH₂ primary amides					
combination	2140	2170	4670	4610	2xamide+amide
	2100	2130	4760	4690	NH stret +amide
	2040	2060	4900	4850	NH stret +amide
	1950	1970	5130	5080	NH stret +amide
first overtone	1600	1620	6250	6170	intermolecular hydrogen bond
	1510	1530	6620	6540	intermolecular hydrogen bond
	1490	1510	6710	6620	first overtone of NH ₂ sym.stret.
	1440	1460	6940	6850	first overtone of NH ₂ anti-sym.stret.
second overtone	2020	2040	4950	4900	second overtone of amide
	1070	1090	9350	9170	intramolecular hydrogen bond
	1015	1035	9850	9660	intramolecular hydrogen bond
	1000	1020	10000	9800	second overtone of NH ₂ sym.stret.
	970	990	10310	10100	second overtone of NH ₂ anti-sym.stret.
17) -CONH- secondary amides					
combination	2150	2170	4650	4610	2 x amide+amide
	2100	2120	4760	4720	NH stret +amide
	1990	2010	5030	4980	NH stret +amide
first overtone	1530	1670	6540	5990	hydrogen bond
	1460	1510	6850	6620	free
second overtone	1910	1930	5240	5180	second overtone of amide
	1035	1120	9660	8930	hydrogen bond
	1000	1050	10000	9520	free
(4) S or P atom containing group					
18) -SH (thiols)					
first overtone	1735	1745	5760	5730	
19) P-OH (phosphorus acids, phosphonic acids, phosphinic acids)					
first overtone	1900	1910	5260	5240	first overtone of OH stret.
20) PH (phosphines, phosphorus acid esters)					
first overtone	1890	1900	5290	5260	

Annex 2. Puresa, toxicitat i manipulació dels reactius utilitzats.¹⁵

- Isobutanol

Toxicitat: Inflamable. Irrita greument els ulls i pell.

Manipulació: A la campana extractora, amb guants, bata i ulleres de seguretat.

- Toluè

Toxicitat: Altament inflamable. Irritant en entrar en contacte amb els ulls. La ingestió pot causar pneumonitis química. Nociu al ser inhalat. Tòxic.

Manipulació: A la campana extractora, amb guants, bata i ulleres de seguretat.

- Isopropanol

Toxicitat: Altament inflamable. Provoca irritació ocular greu. Pot provocar somnolència o vertigen.

Manipulació: A la campana extractora, amb guants, bata i ulleres de seguretat.

- Hidròxid de sodi (0,5N) en metanol

Toxicitat: Nociu en cas d'ingestió. Corrosiu pels ulls, pell, tracte respiratori i ingestió. Provoca cremades greus i lesions oculars. Pot ser irritant al ser inhalat.

Manipulació: A la campana extractora, amb guants, bata i ulleres de seguretat.

- Àcid clorhídric (0,5N)

Toxicitat: Provoca cremades greus a la pell i lesions oculars. Pot irritar les vies respiratòries.

Manipulació: A la campana extractora, amb guants, bata i ulleres de seguretat.