



CLARIANT^E

DESARROLLO DE UNA BIBLIOTECA DE ESPECTROS DE
MATERIAS PRIMAS Y PRODUCTO FINAL MEDIANTE LA
TÉCNICA DE ESPECTROSCOPÍA INFRARROJA (FT-IR)

Sergio Lorenzo Baos

Asignatura: Treball de Fi de Grau

Curso: 2021/2022

Tutor académico: Dr. Juan Carlos Ronda

Tutores profesionales: Dra. Ariadna Campos y Daniel Pardos

Empresa: Clariant Ibérica Producción, S.A.

Índice de contenido

1. Resumen	3
1. Abstract.....	3
2. Objetivos	4
3. Introducción.....	4
3.1. Fundamentos.....	5
3.1.1. Espectroscopía Infrarroja.....	5
3.1.2. Infrarrojo medio con transformada de Fourier	7
3.1.3. Técnicas empleadas para irradiar la muestra	8
3.1.4. Excipientes farmacéuticos	9
3.1.5. ANOVA.....	10
4. Parte experimental.....	11
4.1. Clasificación de las materias primas	11
4.2. Recolección y compra de las muestras.....	12
4.3. Puesta en funcionamiento y verificación del equipo.....	12
4.3.1. Mantenimiento	12
4.3.2. Verificación: Tests de la Farmacopea.....	13
4.4. Análisis y tratamiento de datos	16
4.5. Creación de la biblioteca.....	17
4.5.1. Mediante Patrón de Referencia Certificado	17
4.5.2. Mediante Lotes de Materias Primas.....	17
4.6. Validación de la biblioteca	18
4.7. Realización de los análisis de rutina mediante FT-IR para comprobar el buen funcionamiento del método desarrollado.	18
4.8. Estudio de reproducibilidad.....	19
5. Resultados y discusión	20
5.1. Clasificación de las materias primas.....	20
5.2. Puesta en funcionamiento y verificación del equipo.....	22
5.1. Análisis, tratamiento de datos y creación de la biblioteca	23
5.2. Validación de la biblioteca	24
5.3. Realización de los análisis de rutina mediante FT-IR para comprobar el buen funcionamiento del método desarrollado.	26
5.4. Estudio de reproducibilidad.....	29
6. Conclusiones.....	32
6. Conclusions	33
7. Bibliografía	34
8. Anexos	35

1. Resumen

En la empresa donde he desarrollado este trabajo uno de los requisitos para poder cumplir con la certificación del excipiente farmacéutico es el análisis cualitativo de materias primas y producto acabado con el fin de garantizar que el producto fabricado o adquirido (materias primas) corresponde a la especie química esperada.

En respuesta a esta necesidad, se pretende realizar el desarrollo y validación de una biblioteca de materias primas y producto final aplicado en el sector de excipientes para farmacia, mediante la técnica de espectroscopía de infrarroja (FT-IR).

La espectroscopía de infrarrojo medio con transformada de Fourier (FT-IR), se usa cómo método espectroscópico para la caracterización de la mayoría de los enlaces moleculares orgánicos en el rango de números de onda entre $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$. Mediante el análisis del espectro que se registra a partir de la frecuencia e intensidad de cada una de las bandas de absorción se puede obtener la información sobre la estructura molecular, lo que permite la identificación (huella dactilar) o a la cuantificación de sustancias en una mezcla.

1. Abstract

In the company where I have developed this work one of the requirements to be able to achieve with the certification of the pharmaceutical excipient is the qualitative analysis of the raw materials and result product with the purpose of ensure that the made product or acquired product (raw materials) correspond to the chemical species expected.

In response to this need, it is intended to make the development and validation of a library of raw materials and result product applied in the excipient sector for pharmacy, with the infrared spectroscopy's technique (FT-IR).

The Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), it is used as a spectroscopy's method for the characterization of most organic molecular bonds in the range of wave numbers between $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$. Through the spectrum analysis that is recorded from the frequency and intensity of each of the absorption bands, it can be obtained the information about the molecular structure, which allows the identification

(fingerprint) or to the quantification of the substances in a mixture.

2. Objetivos

- 1- Puesta en funcionamiento, verificación del equipo y redacción de instrucciones pertinentes para el uso y control del FT-IR con ATR incorporado.
- 2- Desarrollo, puesta en funcionamiento y validación de una biblioteca de materias primas y producto final aplicado en el sector de excipientes para farmacia, mediante la técnica de infrarrojo (FT-IR).
- 3- Redacción del método analítico con el criterio pasa/falla.
- 4- Realización de los análisis de rutina mediante FT-IR para comprobar el buen funcionamiento del método desarrollado e incorporar mejoras en caso necesario.
- 5- Realización de un estudio de reproducibilidad mediante la técnica ANOVA de un Factor.

3. Introducción

La empresa en la que se ha llevado a cabo este trabajo es Clariant, una empresa fundada en 1995 que proviene de la empresa Hoechst, una de las primeras empresas químicas que se estableció en Tarragona (se estableció en 1979).

Clariant se ha convertido en una de las empresas químicas especializadas líderes del mundo, que contribuye a la creación de valor con soluciones innovadoras y sostenibles para clientes de muchas industrias. Presenta tres áreas de negocio: "Care Chemicals", Recursos Naturales y Catálisis. La planta de Tarragona acogió en 2012 la producción de una de las plantas de la compañía que se encontraba en Inglaterra, convirtiéndose así en el único centro de producción de polímeros AMPS (2-acrylamido-2-methylpropane sulphonic acid) del grupo Clariant. En 2016 inauguró la planta "High Temperature multipurpose" (HTMP) y solo dos años más tarde la planta "Olive II" para la producción de escualeno. Clariant constituye una de las 33 empresas que forman parte de la AEQT (Asociación Química Empresarial de Tarragona), y desarrolla actividad en los sectores "Industrial & Consumer Specialties" (ICS) y "Oils & Mining Services" (OMS). Fabrican un amplio espectro de materias para la producción de productos para cuidado personal, metalurgia, minería y petróleo, productos para el cuidado del hogar, fitosanitarios y excipientes farmacéuticos. El producto de mayor volumen producido es el Hostapon SI, un

producto utilizado para la producción de cosméticos, concretamente para jabones de la marca comercial Dove.

El presente trabajo se ha desarrollado en los laboratorios del departamento de Calidad y se ha empleado un espectrómetro FT-IR Spectrum 100 de PerkinElmer provisto de un accesorio ATR (ver Figura - 1).



Figura - 1: Espectrómetro FT-IR

3.1. Fundamentos

3.1.1. Espectroscopía Infrarroja

La espectroscopía IR es la técnica espectroscópica mediante la cual se estudia la absorción de radiación infrarroja originada por la interacción entre radiación incidente y la materia a estudiar.

Cuando un haz de luz infrarroja interactúa con la materia, esta absorbe la luz en la región infrarroja del espectro electromagnético, convirtiéndola en vibración molecular (vibración de uno de los enlaces dentro de la molécula). Para que una molécula absorba radiación infrarroja, la frecuencia de la radiación debe permitir la transición entre estados vibracionales, las frecuencias de la radiación y la vibración del enlace deben resonar y la vibración ha de provocar una diferencia en el momento dipolar de la especie con enlaces covalentes.¹

El número de vibraciones posibles para una molécula depende del número de átomos que la forman y su disposición en el espacio.

Pueden distinguirse dos categorías básicas de vibraciones, de tensión y de flexión.

- Las vibraciones de tensión implican variación en la distancia interatómica siguiendo la dirección del enlace entre dos átomos. Existen dos tipos, tensión asimétrica y tensión simétrica.

- Las vibraciones de flexión implican cambios del ángulo que forman los enlaces. Existen cuatro tipos: de tijereteo, balanceo, aleteo y torsión.

En la Figura - 2 se pueden observar los diferentes tipos de vibraciones moleculares.

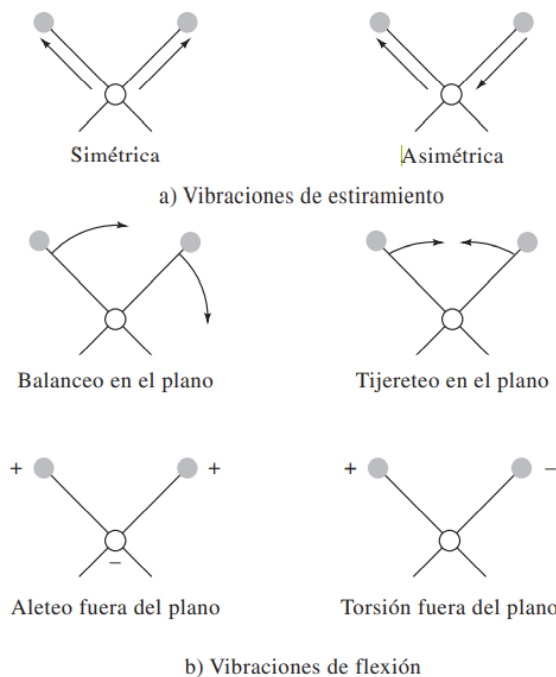


Figura - 2: Tipos de vibraciones moleculares

Cada grupo funcional químico absorbe radiación infrarroja en un rango de número de onda específico (ver Figura - 3). La frecuencia e intensidad de cada una de estas bandas de absorción contribuye al espectro total, lo que permite una identificación característica de la molécula (cada producto presenta un espectro único).

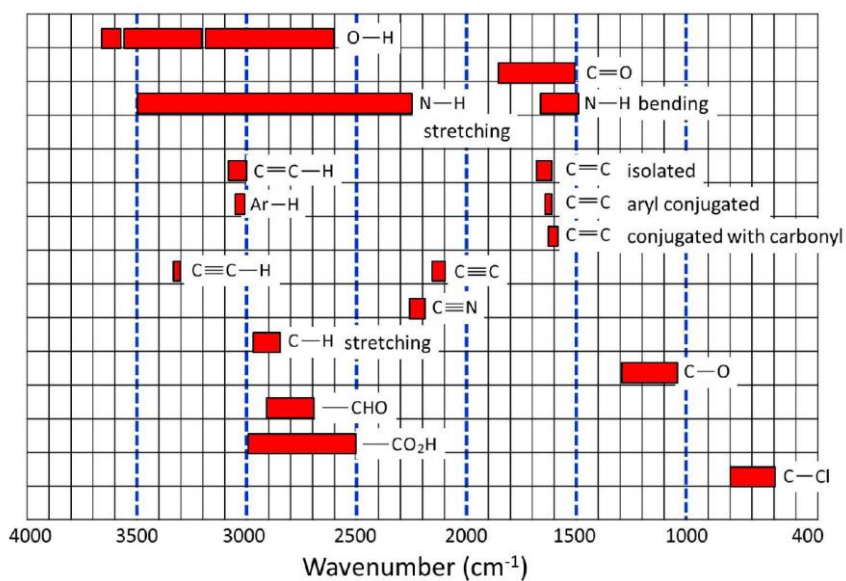


Figura - 3: Regiones características del FT-IR para distintos enlaces y grupos funcionales²

La región más ampliamente utilizada en espectroscopía de infrarrojo medio, se extiende desde casi 670 hasta 4000 cm^{-1} (2.5 y 14.9 μm). En la Tabla - 1 se pueden observar las diferentes regiones del espectro infrarrojo.

Región	Longitud de onda, μm	Número de onda, cm^{-1}	Frecuencias, Hz
Cercana	0.78 a 2.5	12 800 a 4000	3.8×10^{14} a 1.2×10^{14}
Media	2.5 a 50	4000 a 200	1.2×10^{14} a 6.0×10^{12}
Lejana	50 a 1000	200 a 10	6.0×10^{12} a 3.0×10^{11}
La más utilizada	2.5 a 15	4000 a 670	1.2×10^{14} a 2.0×10^{13}

Tabla - 1: Regiones del espectro infrarrojo ³

En FT-IR habitualmente se emplea como unidad el número de onda que es el inverso de la longitud de onda y corresponde a la región de aproximadamente 4000 a 400 cm^{-1} . La mayoría de bandas características aparecen en la región de 4000 a 1500 cm^{-1} . Por debajo de esta región se presenta la llamada “huella dactilar”, se trata de una zona con un gran número de señales cuya identificación resulta muy compleja.

Por motivos prácticos, en este trabajo, se fijó el límite de las abscisas en 550 cm^{-1} debido a que si se llega hasta 400 cm^{-1} , que es el valor mínimo al que permite llegar el equipo, se observa una banda muy fuerte de ruido que interfiere la observación global del espectro debido al uso del ATR.

La espectroscopía infrarroja media destaca principalmente frente a otras técnicas, por su elevada versatilidad, ya que nos permite estudiar prácticamente cualquier muestra independientemente del estado en el que se encuentre, por su elevada selectividad molar, permitiéndonos interpretar los espectros de forma directa, y por su fuerte absortividad que facilita la obtención de espectros con cantidades muy pequeñas de muestra. Esta misma absortividad molar constituye un inconveniente ya que tradicionalmente requería de la dilución de la muestra. Otros inconvenientes son la fuerte absorción tanto del CO_2 atmosférico como del agua que se suelen minimizar registrando un blanco sin muestra, para el caso del CO_2 , y trabajando con muestras lo más secas posible para el caso del agua.

3.1.2. Infrarrojo medio con transformada de Fourier

La principal diferencia entre la espectroscopia IR convencional y la FT-IR es que la IR usa un sistema monocromático, mientras que FT-IR usa un interferómetro (siendo

el de Michelson el más común). Un espectrómetro por transformada de Fourier presenta tres elementos básicos, una fuente luminosa, un interferómetro de Michelson y un detector (ver Figura - 4). Este en lugar de hacer interactuar un haz de luz monocromático con la muestra como ocurre en la espectroscopia IR, divide en dos el haz de luz y gracias a una posterior recombinación se puede representar la potencia de salida en función del retardo (diferencia de la longitud del trayecto recorrido por cada haz) para obtener el interferograma (espectro en el dominio del tiempo). A partir del interferograma, empleando la transformada de Fourier, obtenemos el espectro en el dominio de la frecuencia.⁴

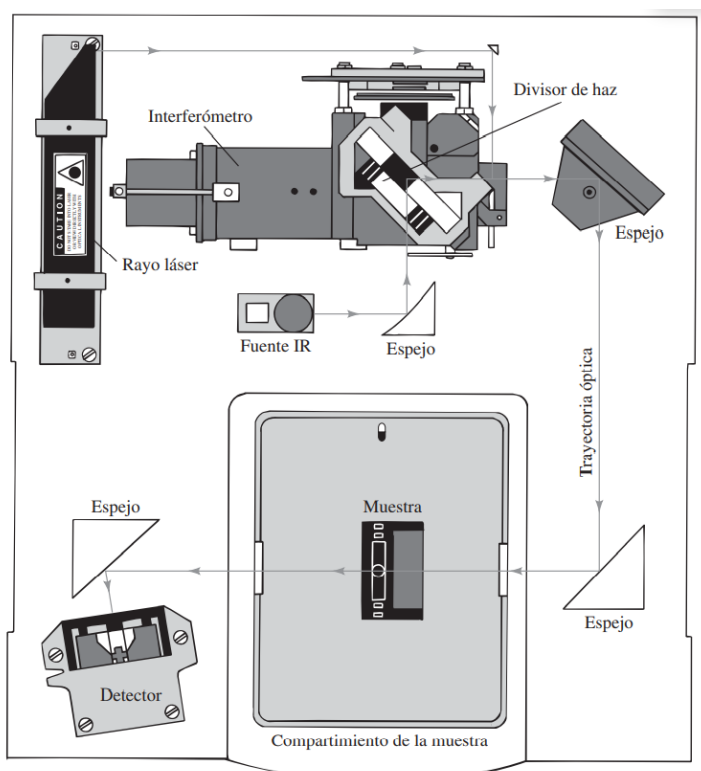


Figura - 4: Diagrama de un espectrómetro de IR con transformada de Fourier

La sensibilidad y límite de detección del FT-IR es superior al IR debido a que este primero presenta un menor ruido de fondo (menor radiación dispersa), deja pasar más radiación (llega más señal al detector) y una mejor señal/ruido (acumula señales y las promedia).

3.1.3. Técnicas empleadas para irradiar la muestra

Existen 4 técnicas distintas para irradiar la muestra: Transmission (TIR), Diffuse-Reflectance (DRIFTS), Attenuated Total Reflection (ATR) y Reflection-Absorption (RAIRS).

En este trabajo, se ha empleado la técnica ATR ya que permite medir el espectro de sustancias de forma directa y no requiere la preparación previa de la muestra. Además, diluyéndola en medios como el Bromuro potasio, permite el análisis de muestras homogéneas sólidas y líquidas directamente sin importar su espesor de una forma sencilla, práctica y eficaz.

En este sistema, cuando un haz de infrarrojo pasa del cristal del ATR, el cual presenta un índice de refracción alto, a la muestra, que presenta un índice de refracción bajo, se produce el fenómeno de reflexión interna total al reflejarse de nuevo una parte de la luz en la muestra en un ángulo de incidencia específico.

El haz de luz que se reflejará de nuevo sobre la muestra, será absorbido por ella convirtiéndolo en vibración molecular y originando así el espectro.

En la Figura - 5 se puede observar un diagrama esquemático de la técnica de muestreo ATR.

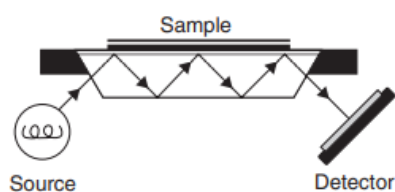


Figura - 5: Diagrama esquemático de la técnica de muestreo ATR⁵

3.1.4. Excipientes farmacéuticos

Los excipientes son sustancias inertes que al ser mezcladas con el principio activo conforman el medicamento contribuyendo entre otros a mejorar la estabilidad de la formulación, la biodisponibilidad del fármaco, la aceptación por parte del paciente, la seguridad y la eficacia de la formulación.

Los excipientes pueden realizar diferentes funciones. Pueden actuar como colorantes, espesantes, conservantes, emulsionantes, tampones, diluyentes, saborizantes, lubricantes, agentes desintegrantes, etc.

La normativa para la regulación de excipientes es estricta y requiere de una estandarización para asegurar la calidad, seguridad y eficacia del producto.⁶

Las farmacopeas de los diferentes países establecen estándares de calidad con la

finalidad de garantizar la calidad de los productos fabricados bajo estos. De esta forma el cliente puede verificar el cumplimiento de los estándares mediante una auditoría.

3.1.5. ANOVA

El método ANOVA o análisis de varianzas, es una herramienta estadística muy empleada en la industria química para el control de procesos o el control de métodos analíticos. El análisis de varianzas nos permite comprobar los efectos de uno o varios factores al realizar una comparación de datos, nos indica si las medias entre dos o más grupos son similares o diferentes.

Para ello:

- 1- Se calcula la variación entre grupos (desviación entre medias de cada grupo y la media global) mediante la suma de cuadrados.

$$VE = \sum_{k=1}^K n_k (\bar{x}_k - \bar{\bar{x}})^2$$

$VE =$ Variación entre grupos

$K =$ Grupos

$\bar{\bar{x}} =$ Media de todos los valores

$\bar{x}_k =$ Media de los datos del grupo

$n_k =$ Número de resultados de cada grupo

- 2- Se calcula la variación dentro de los grupos (desviación entre los resultados individuales de cada grupo y la media de cada grupo) a partir de la suma de cuadrados.

$$VNE = \sum_{k=1}^K \sum_{i=1}^{n_k} (x_{ik} - \bar{x}_k)^2$$

$VNE =$ Variación dentro de los grupos

$x_{ik} =$ Variable objeto de estudio

- 3- Se calculan los cuadrados medios del tratamiento (MS_G) y del error (MS_R).⁷

$$MS_G = \frac{VE}{K - 1}$$

$$MS_R = \frac{VNE}{N - K}$$

$N =$ Número total de valores

3.1.5.1. Prueba F de Fisher

El científico inglés Ronald Fisher introdujo este análisis con el fin de comparar medias de diferentes conjuntos de resultados.

En un ANOVA de un solo factor, la estadística F es una proporción:

$$F_{\text{cal}} = MS_G / MS_R$$

F_{cal} es comparado con el valor tabulado de la distribución F para K (número de grupos) - 1 y N (número de resultados de cada grupo) - K grados de libertad.

Si $F_{\text{cal}} < F_{\text{tab}}$ no se presentarán diferencias significativas entre las medias y podremos afirmar que las medias entre dos o más grupos son similares.

4. Parte experimental

4.1. Clasificación de las materias primas

Inicialmente, se planteó realizar una biblioteca que incluyese el mayor número de materias primas empleadas en las plantas de fabricación y una biblioteca de productos finales.

Por lo tanto, primero se realizó una selección previa de las materias primas.

En esta selección previa, fueron descartadas las materias que no podían ser añadidas porque en la biblioteca existiría otra especie química cuyo espectro presentaría una correlación elevada respecto el espectro de esta, los gases debido a no poder realizarse su análisis con los recursos que se disponía y las sustancias inorgánicas debido a no presentar bandas características.

Para ello, se ha realizado un estudio de las materias primas clasificándolas en función de los grupos funcionales presentes en ellas para así detectar posibles correlaciones elevadas entre sus espectros (dos sustancias con los mismos grupos funcionales y una estructura similar presentarían espectros prácticamente idénticos).

En los casos que han existido dudas, se ha procedido a registrar el espectro de las materias primas y se ha hecho una comparación entre ellos para ver que correlación presentaban.

4.2. Recolección y compra de las muestras

Una vez se ha llevado a cabo la clasificación y se han seleccionado las materias primas y productos finales a incluir en la biblioteca, se procedió a reunir las muestras de los distintos materiales y en su caso a la adquisición de estos.

Para realizar la biblioteca es preciso registrar el espectro de un patrón de referencia certificado de cada materia prima o producto final. Para ello, se trató de aprovechar los patrones disponibles en el laboratorio y se intentó adquirir los restantes.

Puesto que no se pudieron conseguir todos los patrones necesarios, se intentó reunir al menos un mínimo de 4 muestras con distinto número de lote y provenientes de al menos 2 proveedores (en el caso de existir más de 1 proveedor), de todas las materias primas para las cuales no se había podido obtener un patrón de referencia certificado con el fin de obtener un espectro de referencia.

Para poder realizar una validación de la biblioteca y establecer el límite de correlación, también se intenta conseguir al menos un mínimo de 5 muestras con distintos números de lote y provenientes de al menos 2 proveedores (en el caso de existir más de 1 proveedor), de todas las sustancias que se incluirán en la biblioteca.

4.3. Puesta en funcionamiento y verificación del equipo

4.3.1. Mantenimiento

Inicialmente, para evitar la humedad en el equipo, se realizó un cambio de desecante. A continuación, se realizó una purga de nitrógeno durante 20 minutos con el equipo en funcionamiento, para asegurar la completa eliminación del agua que hubiera podido entrar en el sistema antes de estar operativo nuevamente, así como proteger el divisor de haz y otros componentes ópticos.

Por último, se comprobó que el nivel de energía sea superior a 4000 Arb.Units y que el voltaje del láser sea superior a 1000 mV. Si el voltaje es inferior a 1000 mV, podría ser señal de que se ha producido hidratación o que el láser podría estar agotándose.

4.3.2. Verificación: Tests de la Farmacopea

Se realizan test de verificación tanto del sistema de Attenuated Total Reflection (ATR) con una película de poliestireno de 1,2 mm como para el FT-IR con una película de 38 μm .

En todos los casos se siguieron los protocolos establecidos por las farmacopeas que se indican.⁸

a) Test para ATR (European Pharmacopeia):

1- Verificación de la resolución espectral \rightarrow Se registra el espectro de la película de poliestireno en el rango de número de onda 2000-1000 cm^{-1} , realizando 16 barridos y con unidades A en el eje Y. Una vez hecho esto, se comprueba que la diferencia entre un mínimo de absorción a 1589 cm^{-1} y un máximo de absorción a 1583 cm^{-1} (altura mínima del pico) debe ser mayor que 0.004 A (ver Figura - 6).

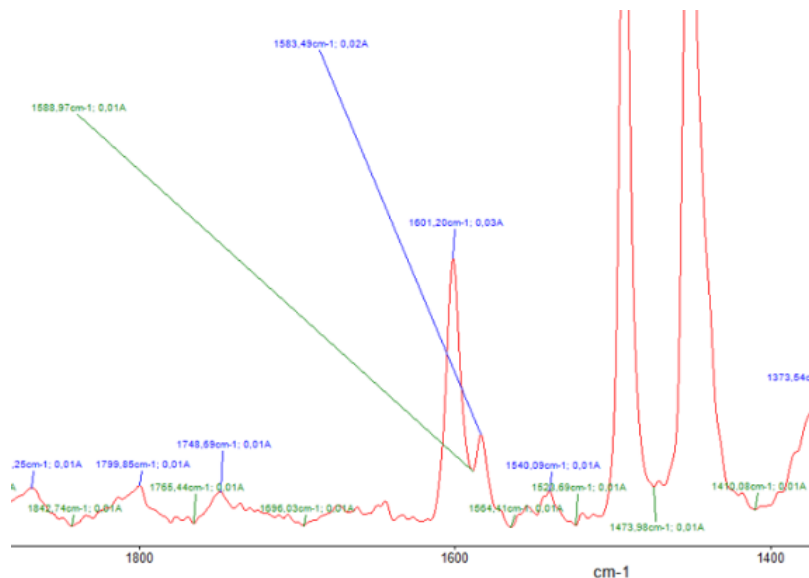


Figura - 6: Espectro de absorbancia FT-IR de la película de poliestireno utilizado para la verificación de la resolución (ATR)

2- Verificación de exactitud de número de onda \rightarrow Se registra el espectro de la película de poliestireno en el rango de 4000-550 cm^{-1} , realizando 16 barridos y con unidades %T en el eje Y. Una vez hecho esto se comprueba la presencia de bandas a 3059.80, 1600.94, 1027.90 y 906.28 cm^{-1} , con una tolerancia de \pm

1.0 cm⁻¹ (ver Figura - 7).

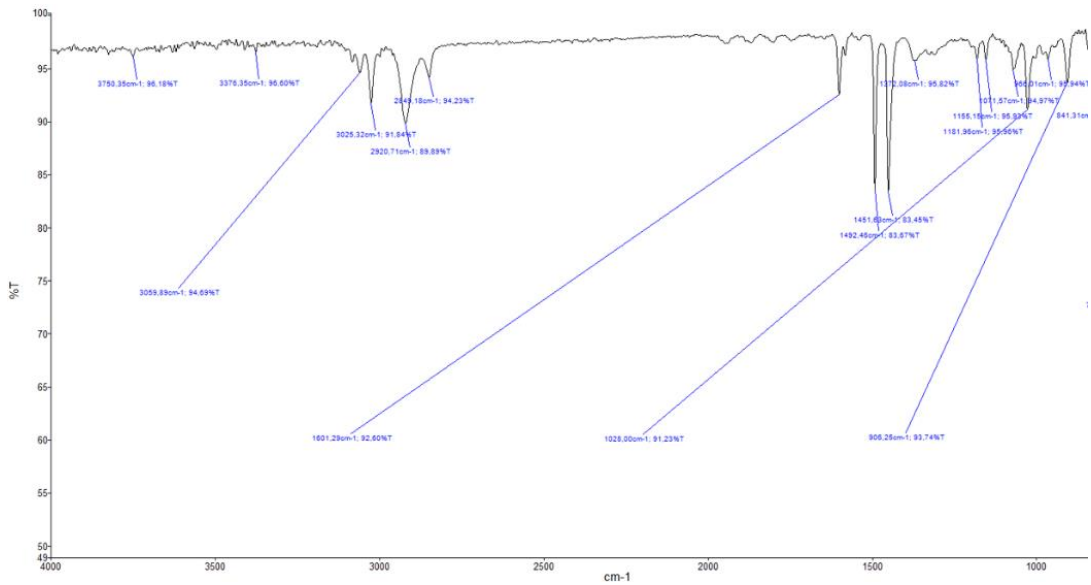


Figura - 7: Espectro de transmitancia de la película de poliestireno utilizado para la verificación de exactitud de número de onda (ATR)

b) Test para FT-IR:

1- Verificación de la resolución espectral (EP, European Pharmacopeia) → Se registra el espectro de la película de poliestireno en el rango de 3000-1200 cm⁻¹, realizando 16 barridos y con unidades A en el eje Y. Una vez hecho esto, se comprueba que la diferencia entre un mínimo de absorción a 1589 cm⁻¹ y un máximo de absorción a 1583 cm⁻¹ sea mayor que 0,08 A, y que la diferencia entre un mínimo de absorción a 2870 cm⁻¹ y un máximo de absorción a 2849,5 cm⁻¹ sea mayor que 0,33 A (ver Figura - 8).

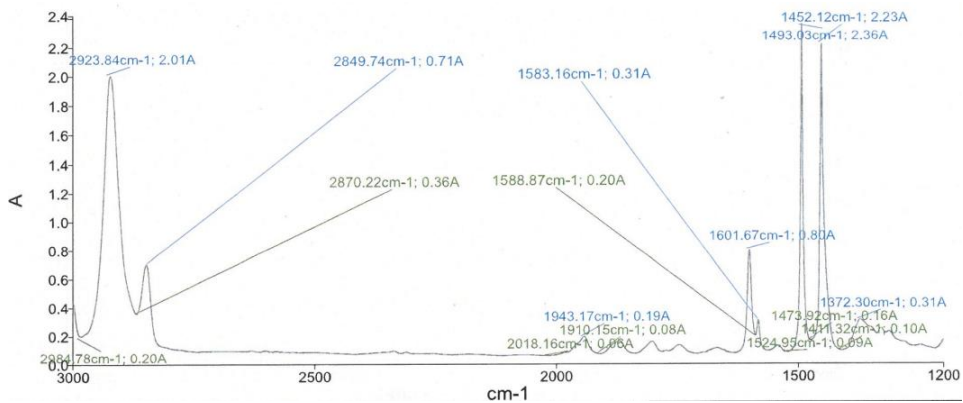


Figura - 8: Espectro de absorbancia FT-IR de la película de poliestireno utilizado para la verificación de la resolución (FT-IR)

- 2- Verificación de la resolución espectral (JP, Japanese Pharmacopeia) → Se registra el espectro de la película de poliestireno en el rango de número de onda 3000-1200 cm^{-1} , realizando 16 barridos y con unidades %T en el eje Y. Una vez hecho esto, se comprueba que la profundidad del valle de la absorción máxima aproximadamente a 2851 cm^{-1} con respecto a la mínima a unos 2870 cm^{-1} sea como mínimo de 18%, y que la profundidad del valle de la absorción máxima aproximadamente a 1583 cm^{-1} con respecto a la mínima a unos 1589 cm^{-1} sea como mínimo de 12% (ver Figura - 9).

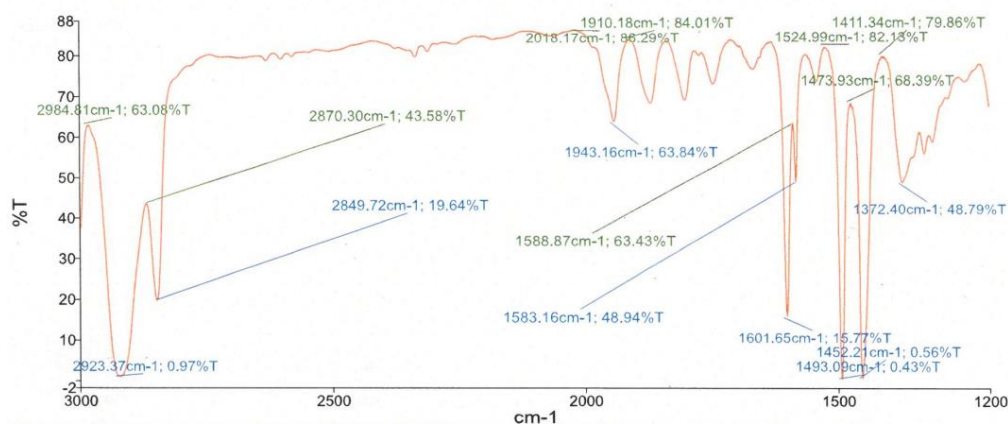


Figura - 9: Espectro de transmitancia de la película de poliestireno utilizado para la verificación de la resolución (FT-IR)

- 3- Verificación de exactitud de número de onda (United States Pharmacopeia, EP y JP) → Se registra el espectro de la película de poliestireno en el rango de longitud de onda 4000-550 cm^{-1} , 16 barridos, con unidades %T en el eje Y. Una vez hecho esto se comprueba la presencia de bandas a 3060.16, 2849.48, 1942.97, 1601.29, 1582.98, 1154.50, 1028.27 y 906.63 cm^{-1} , con una tolerancia de $\pm 1.0 \text{ cm}^{-1}$.
- 4- Test de reproducibilidad (Japanese Pharmacopeia) → Se registran 5 espectros de la película de poliestireno en el rango de 4000-550 cm^{-1} , realizando 16 barridos y con unidades %T en el eje Y. Una vez hecho esto se comprueba:
- La presencia de bandas a 3060, 2849.5, 1942.9, 1601.2, 1583.0, 1154.5, 1028.3 y 906.6 cm^{-1} , con un límite de $\pm 1.0 \text{ cm}^{-1}$ entre el primer espectro y el segundo.
 - La presencia de bandas a 3060, 2849.5, 1942.9, 1601.2, 1583.0, 1154.5, 1028.3 y 906 cm^{-1} , con un límite de $\pm 1.0 \text{ cm}^{-1}$.
 - Los valores de transmitancia de las bandas a 3060, 2849.5, 1942.9,

1601.2, 1583.0, 1154.5, 1028.3 y 906 cm^{-1} y se revisa que el límite (%T) sea 0.5 del promedio para cada punto de ajuste y de la diferencia máxima del valor del primer y segundo espectro.

4.4. Análisis y tratamiento de datos

Una vez realizado el mantenimiento y las verificaciones del equipo, se procedió a registrar los espectros mediante FT-IR de todos los patrones o materias primas seleccionadas que serán empleadas para la creación de la biblioteca.

Se da prioridad a las materias primas y producto final aplicados en el sector de excipientes para farmacia.

Para ello, seguimos los siguientes pasos:

- 1) Inicialización del equipo.
- 2) Recopilación de un espectro de fondo sin muestra presente para eliminar las características introducidas por la respuesta del instrumento, el accesorio de muestreo, y la absorción atmosférica.
- 3) Preparación y medición de la muestra líquida o sólida empleando el accesorio de muestreo ATR.
- 4) Pre-tratamiento de los espectros realizando la corrección de la línea base para corregir la deriva que pueda tener el espectro y un suavizado del mismo para reducir el ruido. En la Figura - 10 podemos apreciar la diferencia entre un espectro con corrección de línea base y suavizado y el mismo espectro sin estos tratamientos.
- 5) Guardado del archivo que contiene el espectro registrado (correctamente identificado con el nombre y número de lote de la muestra).

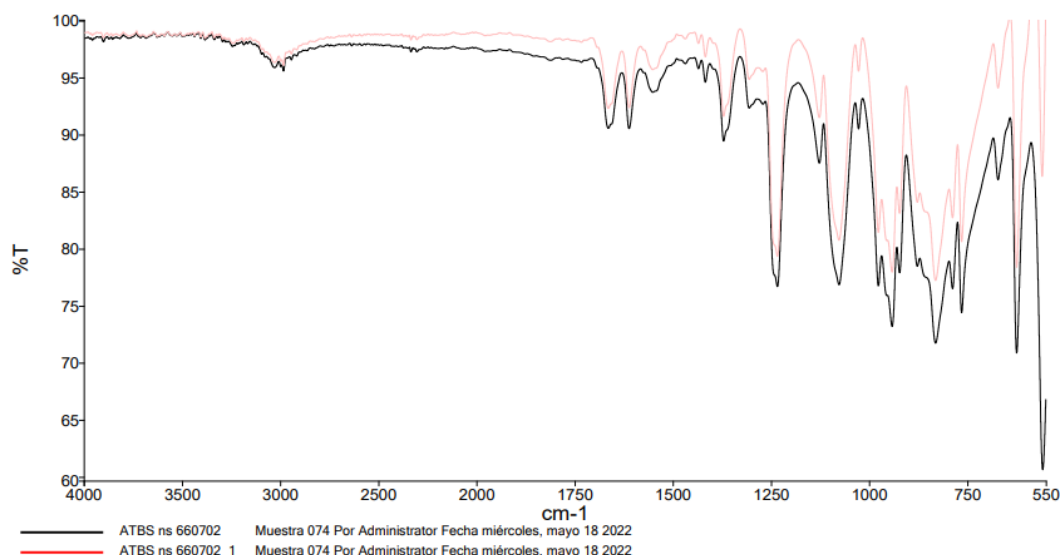


Figura - 10: Ejemplo de la comparación del espectro de la materia prima ATBS lote 660702 frente al mismo espectro con una corrección de línea base y un suavizado del mismo (espectro de color rojo).

4.5. Creación de la biblioteca

4.5.1. Mediante Patrón de Referencia Certificado

Si se tiene una sustancia de referencia comercial, se puede crear un espectro de referencia siempre que exista una correlación igual o superior inferior a un 85 - 90% con la muestra medida y a la vez inferior al 2º espectro con mayor correlación de alguna de las otras sustancias que componen la librería.

Para crear la librería, se registró el espectro del patrón tal como se describe en el apartado 4.4. Una vez registrado, se procedió a guardar el archivo del espectro en un directorio donde se acumularán todos los archivos que contienen los espectros de referencia de la biblioteca.

4.5.2. Mediante Lotes de Materias Primas

En el caso de no tener un patrón de referencia certificado y sólo disponer de diferentes lotes de materia prima recibida en Clariant, se crea un espectro promedio que será empleado como espectro de referencia.

Para crearlo, se registró cada uno de los lotes (asegurándose de una correlación entre espectros mayor al 80 – 85%), se aplicaron los pre-tratamientos ya comentados en el apartado 4.4 y se guardaron de la misma forma que se ha comentado anteriormente.

A continuación, los espectros individuales se cargaron en la aplicación OPUS 7.8. (software independiente), y se realizó un promedio guardando el archivo del espectro generado en formato reconocido por el software Spectrum, en el directorio donde se acumulan todos los archivos que contienen los espectros de referencia de la biblioteca.

4.6. Validación de la biblioteca

Para poder verificar la biblioteca creada, se realiza la comparación de las materias primas recopiladas para la validación con los espectros de referencia guardados en la biblioteca.

Para ello, se procede a medir las materias a identificar y aplicar los pre-tratamientos de la misma forma que se ha comentado en los apartados anteriores.

Una vez registradas las materias primas, se selecciona la carpeta donde se encuentran los espectros de referencia (biblioteca) y se realiza la comparación de los espectros registrados respecto a la biblioteca.

Al realizar la comparación se genera la correlación del espectro respecto a la mejor coincidencia y respecto al resto de materias primas que se encuentran en la biblioteca.

A partir de la comparación obtenida, se comprueba la existencia de materias primas cuyo espectro tenga una correlación elevada con otra especie química distinta.

También, mediante este proceso, se puede establecer el límite de correlación. El límite, debe ser superior a todas las segundas mejores coincidencias, e inferior a la mejor coincidencia, que debe corresponder al espectro de referencia de la misma sustancia que estamos validando. El límite de correlación mínimo debe ser superior a un 85 – 90%. Intentando obtener la mayor correlación posible.

Una correlación de 100% indica que hay una coincidencia perfecta entre dos espectros, los dos grupos de datos son idénticos.

4.7. Realización de los análisis de rutina mediante FT-IR para comprobar el buen funcionamiento del método desarrollado.

Una vez realizada la validación y habiendo establecido el límite de correlación mínimo, se inició la realización de los análisis de rutina mediante FT-IR para comprobar el buen funcionamiento del método desarrollado e incorporar mejoras en caso necesario.

Para ello, se redactaron unas indicaciones breves para informar a los analistas, el método analítico y las instrucciones pertinentes para el uso y control del FT-IR con ATR incorporado.

Una vez redactadas y revisadas las instrucciones, se procede a llevar a cabo los análisis de rutina mediante FT-IR de todas las materias primas incluidas en la biblioteca siguiendo el mismo procedimiento ya comentado en la validación.

Al realizar la comparación se generará la correlación del espectro respecto a la mejor coincidencia y frente al resto de materias primas que se encuentran en la biblioteca. También se comprueba si pasa (presenta una correlación superior al límite establecido) o falla el test con éstas.

Se debe comprobar que pase el test (correlación) con solo un patrón de referencia, y que este sea el esperado. Ejemplo (ver Figura - 11): Se ha realizado la comparación de la materia prima de N-vinil-2-pirrolidona (NVP) y se observa que tiene una correlación con el espectro de NVP referencia (biblioteca) del 0.998434, superior al criterio establecido (0.9), y una correlación inferior (falla el test) con la segunda mejor coincidencia, de 0.428388. Por lo tanto, podemos garantizar que el producto adquirido corresponde a la especie química esperada, puesto que la correlación obtenida es superior al criterio de correlación establecido y sólo hay una correlación que pase el test.

Referencias comparadas				
Nombre de la muestra	Correlación	Factor	Criterios de correlación	Pasa/Falla
C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\NVP ns S6797918408_1.sp	0,998434	1,02759	0,9	Pasa
C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Sodium bicarbonate ns A0434349_1.sp	0,428388	7,90781	0,9	Falla

Figura - 11: Ejemplo de la identificación de una materia prima (NVP)

4.8. Estudio de reproducibilidad

Para poder evaluar la reproducibilidad del método desarrollado 4 analistas realizaron la medición de 10 lotes distintos, de diferentes sustancias químicas, 2 veces cada uno anotando sus resultados (valor de correlación y el patrón con el que da la mayor correlación) de las mediciones individuales.

Una vez obtenidos todos los resultados, se procedió a realizar un ANOVA de un Factor mediante el programa Minitab para verificar si los 4 analistas son capaces de dar el mismo resultado de las diferentes muestras medidas.

5. Resultados y discusión

5.1. Clasificación de las materias primas

Tras realizar la selección previa, las materias primas que fueron seleccionadas para ser añadidas a la biblioteca son las siguientes:

Materias primas aplicadas en el sector de excipientes para farmacia:

1. 2-methylpropan-2-ol (*tert-Butanol*)
2. 1-dodecylperoxydodecane (*Lauroyl Peroxide*)
3. Trimethylol propane Triacrylate (*Laromer TMPTA*)
4. N-Vinyl-2-pyrrolidone (*NVP*)
5. 2-acrylamido-2-methylpropane sulphonic acid (*ATBS*)
6. 3-[2,3-bis(3-prop-2-enoyloxypropoxy)propoxy]propyl prop-2-enoate (*Propoxylated Glycerol Triacrylate*)
7. 1,2,3-propanetriol (*Glycerin*)
8. [(2R)-2-[(2R,3R,4S)-3,4-dihydroxyoxolan-2-yl]-2-hydroxyethyl] dodecanoate (*Sorbitan Monolaurate*)
9. 2-Hydroxypropanoic acid (*Lactic acid*)
10. 2,3-bis[[Z]-12-hydroxyoctadec-9-enoyl]oxypropyl (Z)-12-hydroxyoctadec-9-enoate (*Castor Oil*)
11. [(2R)-2-[(2R,3R,4S)-3,4-dihydroxyoxolan-2-yl]-2-hydroxyethyl] (Z)-octadec-9-enoate Sorbitan Monooleate (*Sorbitan Monooleate*)
12. Poly(ethylene glycol) dimethacrylate (*PEG-DMA*)
13. Behenylpolyethoxy (25) methacrylate (*Plex 6955*)
14. 2,3-bis(12-hydroxyoctadecanoyloxy)propyl 12-hydroxyoctadecanoate (*Hydrogenated Castor Oil*)

Materias primas aplicadas en otros sectores:

1. 2-methylprop-2-enoic acid (*Methacrylic acid*)
2. 3-prop-2-enoyloxypropanoic acid (*Carboxyethyl acrylate*)
3. N,N-dimethylprop-2-enamide (*Dimethylacrylamide*)
4. Propane-1,2-diol (*Monopropylene glycol*)
5. Propan-2-ol (*Isopropyl alcohol*)

6. Formaldehyde 37% (*Formalin 37%*)
7. 2-aminoacetic acid (*Glycine*)
8. Sodium;(2S)-2-amino-5-hydroxy-5-oxopentanoate (*Monosodium glutamate*)
9. Aluminum octadecanoate (*Aluminium stearate*)
10. Magnesium octadecanoate (*Magnesium stearate*)
11. 5,5-dimethylimidazolidine-2,4-dione (*Dimethyl hydantoin*)
12. Sodium;2-(methylamino)acetate 40% (*Sodium sarcosinate 40%*)
13. 2-ethylhexyl octadecanoate (*2-ethylhexyl stearate*)
14. Sodium;2-(methylamino)ethanesulfonate 40% (*N-methyl-aurine sodium salt 40%*)
15. 2,6-ditert-butyl-4-methylphenol (*Ionol CP*)
16. 2-aminoethanol (*Monoethanolamine*)
17. Methyl 2-[(1-methoxy-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)diazenyl]-2-methylpropanoate (*Dimetil 2,2 azobis isobutyrate*)

Tras estudiar los productos finales, se observó que solo el espectro de uno de ellos (Poloxamer Solid) era capaz de diferenciarse mediante FT-IR a los espectros del resto de productos finales (ver Figura - 12). Por lo tanto, se decidió no añadir los espectros de los 4 productos finales que inicialmente se querían incluir en la biblioteca y buscar otra técnica para su identificación.

Los 4 productos finales son los siguientes:

1. Alpha-Hydro-omega-hydroxypoly(oxyethylene)-co-poly(oxypropylene)-co-poly(oxyethylene)ABA block copolymer (*Poloxamer Solid*)
2. 2-[1,3-bis[2-[(Z)-11-hydroxyheptadec-8-enoxy]carbonyloxyethoxy]propan-2-yloxy]ethyl [(Z)-11-hydroxyheptadec-8-enyl] carbonate (*Polyoxyl 35 castor oil*)
3. 2-[2-[3,4-bis(2-hydroxyethoxy)oxolan-2-yl]-2-(2-hydroxyethoxy)ethoxy]ethyl dodecanoate (*Polysorbate 20*)
4. 2-[2-[3,4-bis(2-hydroxyethoxy)oxolan-2-yl]-2-(2-hydroxyethoxy)ethoxy]ethyl octadec-9-enoate (*Polysorbate 80*)

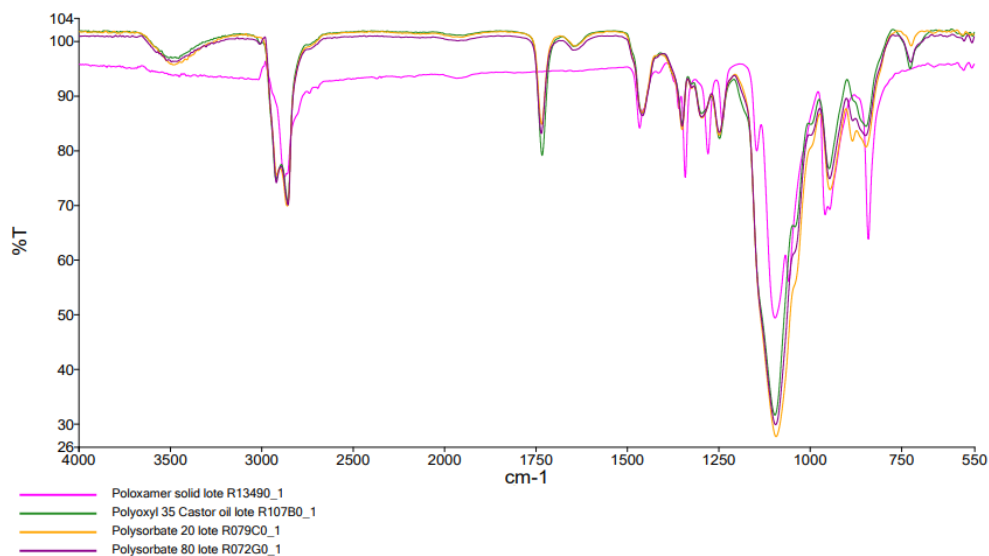


Figura - 12: Comparación de los espectros de los 4 productos finales (Poloxamer Solid, Polyoxyl 35 castor oil, Polysorbate 20 y Polysorbate 80)

5.2. Puesta en funcionamiento y verificación del equipo

El cambio de desecante y la purga de nitrógeno fueron realizados con éxito verificando también que el nivel de energía era superior a 4000 Arb.Units (ver Figura - 13) y que el voltaje del láser era superior a 1000 mV.

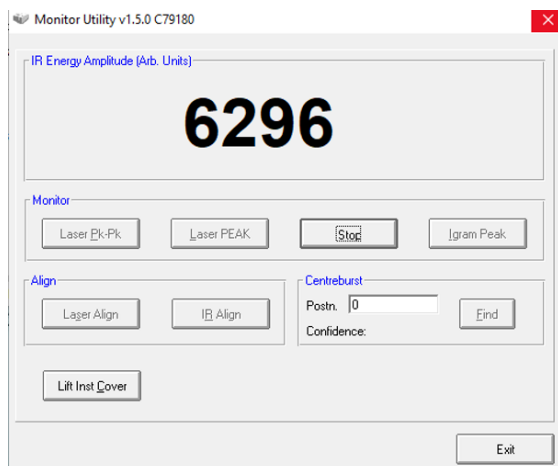


Figura - 13: Resultado de la revisión del nivel de energía mediante la aplicación "Monitor".

Los test de farmacopea tal y como se ha visto en las (figuras 4, 5, 6 y 7), también fueron superados con éxito.

5.1. Análisis, tratamiento de datos y creación de la biblioteca

Con el objetivo de desarrollar la biblioteca, se crearon dos carpetas, la carpeta “Biblioteca GMP y PHARMA” y la carpeta “Biblioteca GMP”.

En la carpeta “Biblioteca GMP y PHARMA”, fueron guardados todos los espectros de referencia que habían sido registrados de las materias primas aplicadas en el sector de excipientes para farmacia.

Exceptuando el Castor Oil con el que se realizó un promedio con 6 lotes distintos y el Hydrogenated Castor Oil con el que se realizó un promedio con 4 lotes distintos, el resto de los espectros de referencia provinieron de patrones de referencia certificados.

Para las materias primas Plex 6955, PEG-DMA y Propoxylated Glyceryl Triacrylate no se pudieron conseguir patrones de referencia certificados ni se consiguió realizar un espectro promedio con 4 o más lotes distintos, por lo tanto, se guardaron espectros provisionales realizando un promedio con el mayor número de lotes distintos.

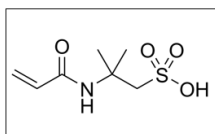
En la carpeta “Biblioteca GMP” fueron guardados los espectros de referencia que se pudieron registrar de las materias primas aplicadas en otros sectores.

Se guardaron los espectros del ácido metacrílico, la dimetilacrilamida, el monopropilenglicol, el alcohol isopropílico técnico, la glicina, el glutamato monosódico y el Ionol CP (todos provenientes de patrones de referencia certificados).

Una vez guardados los espectros de referencia en sus respectivas carpetas, se realizó un estudio de las bandas más representativas de cada espectro guardado. En las Figura - 14 y Figura - 15 se pueden observar dos ejemplos.

2-acrylamido-2-methylpropane sulphonic acid, ATBS

Estructura:



Fórmula molecular: C₇H₁₃NO₄S

SAP: 22884021280

CAS: 15214-89-8

Lote: S7805067208

Pureza: 100%

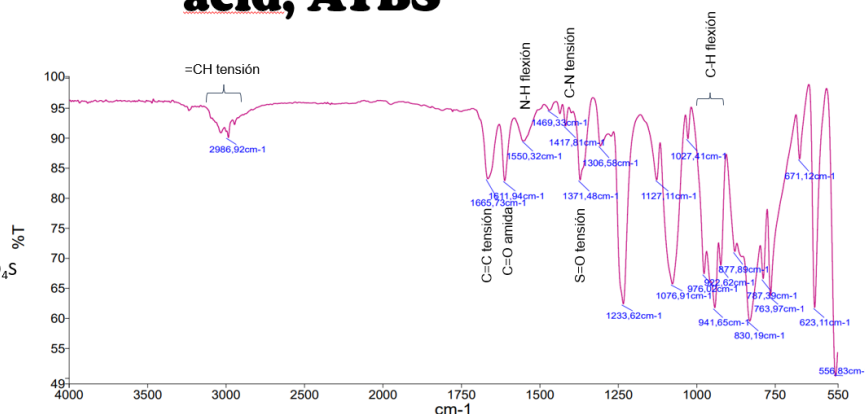
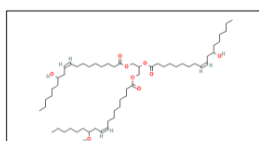


Figura - 14: Identificación de las bandas más representativas del espectro FT-IR del patrón de referencia ATBS lote S7805067208

2,3-bis[[(Z)-12-hydroxyoctadec-9-enoyl]oxy]propyl (Z)-12-hydroxyoctadec-9-enoate, Castor oil

Estructura:



Fórmula molecular: C₅₇H₁₀₄O₉

SAP: 133494

CAS: 8001-79-4

Lote: Promedio de los lotes:
613059, 518971, 604383, 502763,
622325 y M30MA1021

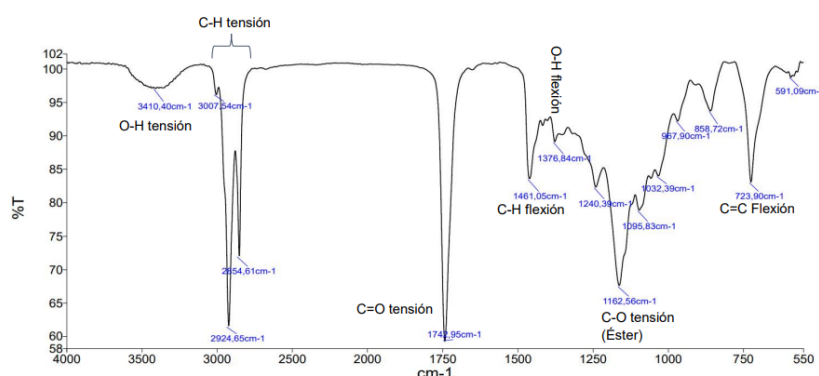


Figura - 15: Identificación de las bandas más representativas del espectro FT-IR del promedio de los lotes 613059, 518971, 604383, 502763, 622325 y M30MA1021 de Castor Oil

5.2. Validación de la biblioteca

La validación solo se pudo llevar a cabo para la biblioteca que contenía las materias primas aplicadas en el sector de excipientes para farmacia ya que la otra biblioteca quedó incompleta por falta de tiempo y material.

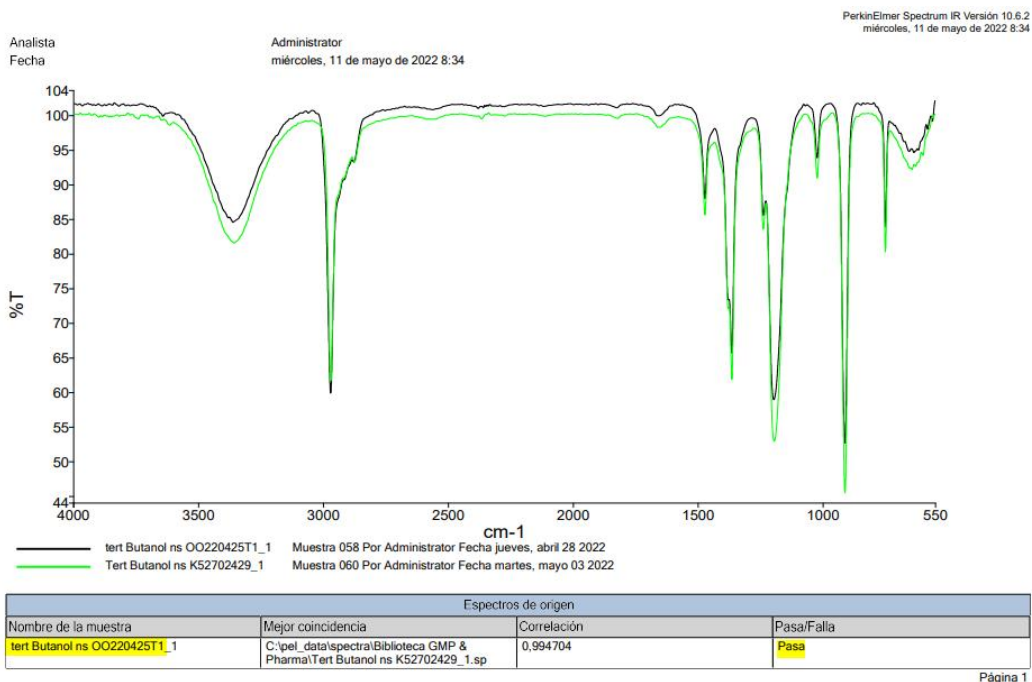
En la Tabla - 2 se puede observar un resumen de la validación realizada.

Producto	Muestras comprobadas	Nº Proveedores validados	Correlación promedio con espectro de referencia	Correlación mayor con 2ª mejor coincidencia
NVP	9	2	0,9990	0,4379
ATBS	20	2	0,9748	0,3406
Glicerina	12	3	0,9991	0,3062
Ac. Láctico	4	2	0,9866	0,3329
Sorbitan Monooleate	1	1	0,9943	0,8830
Sorbitan Monolaurate	1	1	0,9827	0,9005
Plex 6955	1	1	0,9993	0,5339
Castor Oil	5	3	0,9932	0,7842
Aceite Ricino Hidrogenado	3	2	0,9793	0,6745
Tert-Butanol	7	1	0,9938	0,3307
TMPTA	15	4	0,9997	0,5587
DLP	15	1	0,9759	0,2546
PEG-DMA	1	1	0,9991	0,5076
GPTA	2	1	0,9998	0,5601

Tabla - 2: Resumen de la validación realizada para la Biblioteca GMP y Pharma

En todas las muestras analizadas en la validación, se obtuvo una correlación con el patrón de referencia (mejor coincidencia) igual o superior al 95% (Ver Anexo - 1). También se obtuvo una correlación inferior al 80% con el resto de las coincidencias a excepción del Sorbitan Monolaurate y Sorbitan Monooleate que presentaban una correlación del 90% entre ellas.

En la Figura - 16 podemos observar un ejemplo de un análisis comparativo realizado para la validación.



PerkinElmer Spectrum IR Versión 10.6.2
miércoles, 11 de mayo de 2022 8:34

Referencias comparadas				
Nombre de la muestra	Correlación	Factor	Criterios de correlación	Pasa/Falla
C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Tert Butanol ns K52702429_1.sp	0,994704	0,83218	0,93	Pasa
C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Aceite de ricino hidrogenado-Av.0_1.sp	0,282971	0,957403	0,93	Falla
C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\ATBS ns S7805067208_1.sp	0,233061	-0,214488	0,93	Falla

Figura - 16: Ejemplo del análisis comparativo de la materia prima t-BuOH lote 00220425T1 frente a los patrones de referencia.

A partir de la validación, se pudo descartar la existencia de materias primas en la biblioteca cuyo espectro tuviese una correlación elevada con otra especie química distinta.

También se pudo establecer el límite de correlación. Este debía ser superior a todas las segundas mejores coincidencias, e inferior a la mejor coincidencia. Por lo tanto, se estableció un 93% como criterio de correlación mínimo.

5.3. Realización de los análisis de rutina mediante FT-IR para comprobar el buen funcionamiento del método desarrollado.

En la Tabla - 3 se resumen los resultados obtenidos al realizar los análisis de rutina

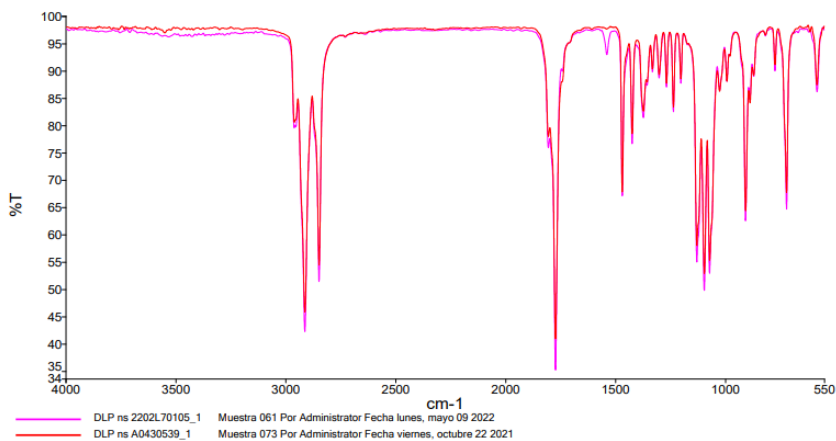
de las materias primas indicadas en la tabla. En todos los casos se cumplieron los criterios establecidos y se obtuvieron resultados exitosos.

Muestra	Resultado de coincidencias	Orden de coincidencias	Correlación	Resultado
NVP ns 44940797V0_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\NVP ns S6797918408_1.sp	1	0,999035	Pasa
NVP ns 44940797V0_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Glicerina ns 0001433106_1.sp	2	0,192374	Falla
NVP ns S7777618_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\NVP ns S6797918408_1.sp	1	0,998508	Pasa
NVP ns S7777618_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Glicerina ns 0001433106_1.sp	2	0,184072	Falla
Ac de ricino 1ª presión ns M28MA0222_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Castor oil-Av_1.sp	1	0,987465	Pasa
Ac de ricino 1ª presión ns M28MA0222_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\SMO ns Z23G055_1.sp	2	0,762813	Falla
Ac de ricino hidrogenado ns 568828_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Castor oil-Av_1.sp	1	0,990729	Pasa
Ac de ricino hidrogenado ns 568828_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\SMO ns Z23G055_1.sp	2	0,769771	Falla
Glicerina veg USP ns 22A28788A1_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Glicerina ns 0001433106_1.sp	1	0,999007	Pasa
Glicerina veg USP ns 22A28788A1_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Lactic acid ns A0433880_1.sp	2	0,300204	Falla
ATBS ns 660706_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\ATBS ns S7805067208_1.sp	1	0,969974	Pasa
ATBS ns 660706_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Tert Butanol ns K52702429_1.sp	2	0,242688	Falla
ATBS ns 660703_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\ATBS ns S7805067208_1.sp	1	0,972323	Pasa
ATBS ns 660703_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Tert Butanol ns K52702429_1.sp	2	0,245456	Falla
ATBS ns 660707_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\ATBS ns S7805067208_1.sp	1	0,973454	Pasa
ATBS ns 660707_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Tert Butanol ns K52702429_1.sp	2	0,243994	Falla
ATBS ns 660705_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\ATBS ns S7805067208_1.sp	1	0,973702	Pasa
ATBS ns 660705_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Tert Butanol ns K52702429_1.sp	2	0,238187	Falla
ATBS ns 660702_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\ATBS ns S7805067208_1.sp	1	0,968965	Pasa
ATBS ns 660702_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Tert Butanol ns K52702429_1.sp	2	0,24764	Falla
ATBS ns 660704_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\ATBS ns S7805067208_1.sp	1	0,973943	Pasa
ATBS ns 660704_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Tert Butanol ns K52702429_1.sp	2	0,24309	Falla
TMPTA ns. 220011 P 040_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\TMPTA ns MKCR3964_1.sp	1	0,999415	Pasa
TMPTA ns. 220011 P 040_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\GPTA-Av.0_1.sp	2	0,548495	Falla

DLP ns 2202L70105_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\DLP ns A0430539_1.sp	1	0,997315	Pasa
DLP ns 2202L70105_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Polysorbate 20 lote R079C0_1.sp	2	0,285453	Falla
DLP ns 2203L70211_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\DLP ns A0430539_1.sp	1	0,996438	Pasa
DLP ns 2203L70211_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Polysorbate 20 lote R079C0_1.sp	2	0,283735	Falla
DLP ns 2203L070218_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\DLP ns A0430539_1.sp	1	0,988828	Pasa
DLP ns 2203L070218_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Lactic acid ns A0433880_1.sp	2	0,217074	Falla
DLP ns 22040L70269_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\DLP ns A0430539_1.sp	1	0,978403	Pasa
DLP ns 22040L70269_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Lactic acid ns A0433880_1.sp	2	0,216884	Falla

Tabla - 3: Resultados obtenidos al realizar los análisis de rutina de las materias primas indicadas en la tabla

En la Figura - 17, se puede observar como ejemplo el resultado del análisis comparativo de la materia prima lauroyl peroxide lote 2202L70105 frente a los patrones de referencia. En dicho análisis, se obtiene una correlación superior al 93% respecto el patrón de referencia lauroyl peroxide lote A0430539 y una correlación inferior al resto de los patrones de referencia. Por lo tanto, pasa el test y se puede afirmar que el producto adquirido (materias prima), corresponde a la especie química esperada. Y de igual modo para el resto de materias primas estudiadas.



Espectros de origen			
Nombre de la muestra	Mejor coincidencia	Correlación	Pasa/Falla
DLP ns 2202L70105_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\DLP ns A0430539_1.sp	0,997315	Pasa

Página 1

PerkinElmer Spectrum IR Versión 10.6.2
lunes, 9 de mayo de 2022 8:44

Referencias comparadas				
Nombre de la muestra	Correlación	Factor	Criterios de correlación	Pasa/Falla
C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\DLP ns A0430539_1.sp	0,997315	1,08467	0,93	Pasa
C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Polysorbate 20 lote R079C0_1.sp	0,285453	0,284361	0,93	Falla

Figura - 17: Ejemplo del análisis comparativo de la materia prima lauroyl peroxide lote 2202L70105 frente a los patrones de referencia.

5.4. Estudio de reproducibilidad

A partir de los resultados obtenidos por los 4 analistas (ver Anexo – 2), se obtuvieron los siguientes resultados al realizar un ANOVA de un Factor mediante el programa Minitab.

ESTUDIO R&R – BIBLIOTECA FTIR

ANOVA de un solo factor: Correlación vs. Analista

Método

- Hipótesis nula Todas las medias son iguales
- Hipótesis alterna No todas las medias son iguales
- Nivel de significancia $\alpha = 0,05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Analista	4	Claudia; Cristina; Lola; Sergio

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Analista	3	0,000999	0,000333	1,82	0,150
Error	76	0,013894	0,000183		
Total	79	0,014893			

Resumen del modelo

S	R-cuadrado	R-cuadrado(ajustado)	R-cuadrado (pred)
0,0135208	6,71%	3,03%	0,00%

Medias

Analista	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Claudia	20	0,99379	0,00685	(0,98777; 0,99981)
Cristina	20	0,98420	0,02028	(0,97818; 0,99022)
Lola	20	0,98931	0,01296	(0,98329; 0,99533)
Sergio	20	0,99139	0,01025	(0,98537; 0,99741)

Desv.Est. agrupada = 0,0135208

Se puede observar como el valor p (0,150; probabilidad de aceptar la hipótesis alternativa como cierta), es superior al nivel de significancia ($\geq 0,05$) por lo tanto se puede afirmar que las diferencias entre las medias no son estadísticamente significativas.⁹

Como $F_{\text{cal}} = 1,82 < F_{\text{tab}} = 2,72$ ($\alpha = 0.05$, 3, 76) también aceptamos la hipótesis nula, todas las medidas son iguales, por lo tanto, los 4 analistas son capaces de dar el mismo resultado de las diferentes muestras medidas.

Por último, en la Figura - 18, podemos observar un gráfico de intervalos de confianza de 95% de la media de los grupos, donde se observa que la media de todos los resultados proporcionados por los diferentes analistas son muy parecidas, lo que nos indica que las medias no son significativamente diferentes.

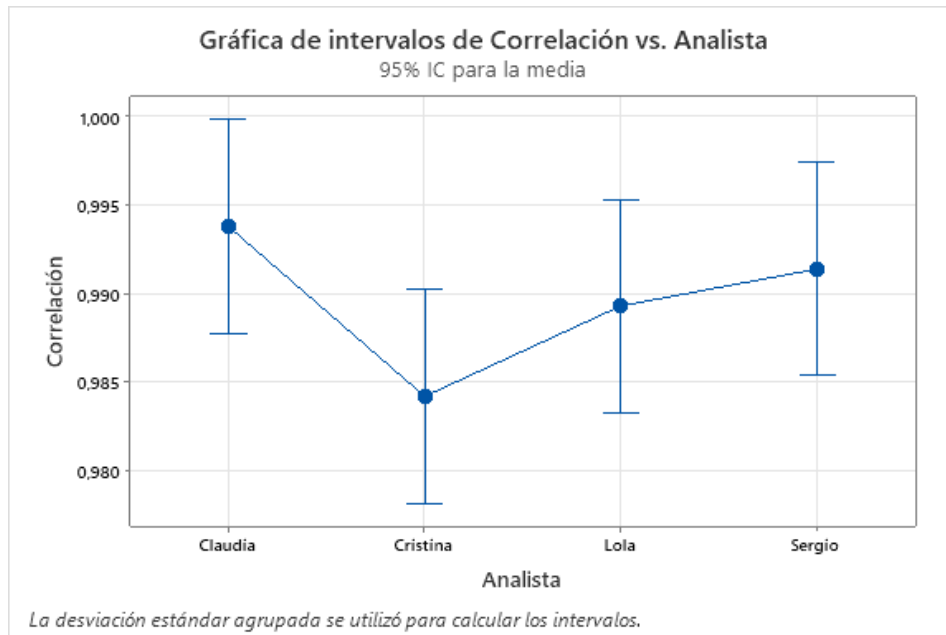


Figura - 18: Gráfica de intervalos de confianza de 95% de la media de los grupos

También se ha de comentar que no se trata de un estudio riguroso. Al haberse realizado a partir de diferentes sustancias, se presenta variabilidad en los distintos conjuntos de datos.

6. Conclusiones

- La espectroscopía de infrarrojo medio con transformada de Fourier ha demostrado ser un método rápido y eficaz para el análisis cualitativo de materias primas permitiendo confirmar si el producto adquirido corresponde a la especie química esperada.
- Se ha llevado a cabo la puesta en funcionamiento, verificación del equipo y redacción de instrucciones pertinentes para el uso y control del FT-IR con ATR incorporado.
- Se ha desarrollado, puesto en funcionamiento y validado una biblioteca de materias primas aplicadas en el sector de excipientes para farmacia, mediante la técnica de infrarrojo (FT-IR).
- Algunos de los espectros de referencia guardados (Plex 6955, PEG-DMA y Propoxylated Glyceryl Triacrylate) no han podido ser considerados como definitivos por no haber conseguido los patrones necesarios y por el hecho de que en otros casos no se ha conseguido un mínimo de 5 muestras con distintos números de lote para la validación.
- Se ha redactado un método analítico con el criterio pasa/falla que puede ser aplicado de forma simple por diferentes analistas.
- La realización de análisis de rutina y un estudio de reproducibilidad de los resultados han permitido comprobar el buen funcionamiento del método desarrollado.

6. Conclusions

- The Fourier transform infrared spectroscopy has proved to be the fastest and effective method for the qualitative analysis of raw materials allowing to verify if the acquired product correspond to the chemical species expected.
- It has carried out the set up, the equipment verification, and the writing of the pertinent instructions for the use and control of the FT-IR with incorporated ATR.
- It has been developed, put into operation, and validated a library of raw materials applied in the pharmaceutical excipients sector, using the infrared technique (FT-IR).
- Some of the saved reference spectra (Plex 6955, PEG-DMA and Propoxylated Glyceryl Triacrylate) could not be considered as definitive for not having obtained the necessary patterns and due to the fact that in other cases it has not been possible a minimum of 5 samples with different set numbers for the validation.
- It has been written an analytic method with the rule pass/fail that can be applied in a simple way by different analysts.
- The realization of routine analysis and a reproducibility study of the results have allowed to check the good working of the developed method.

7. Bibliografía

- (1) Piqué, T. M.; Vázquez, A. Uso de Espectroscopía Infrarroja Con Transformada de Fourier (FTIR) En El Estudio de La Hidratación Del Cemento. *Concreto y Cemento. Investigación y Desarrollo* **2012**, 3, 62–71.
- (2) Campos, A.; Clariant. *TA-INCE-35 - Instrucciones de Uso y Control Del FT-IR – Spectrum 100 (Perkin Elmer)*; 2019.
- (3) Skoog, D. A.; Holler, Fj.; Crouch, S. R. *Principios de Análisis Instrumental*, 6th ed.; Cervantes, S., Ed.; Cengage Learning Editores: Santa Fe, 2008.
- (4) Garrigues, M. Análisis Cuantitativo Por Espectrometría Infrarroja Empleando La Transformada de Fourier, Universidad de Valencia, 1993.
- (5) Sun, D.-Wen. *Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control*, 1st ed.; Academic Press/Elsevier, 2009.
- (6) Chaudhari, S.; Patil, P. Pharmaceutical Excipients: A Review. *IJAPBC* **2012**, 1, 21–34.
- (7) Riu, J. *Quimiometria 2020-21 Tema 1-Estadística Aplicada al Laboratori*; Tarragona, 2020.
- (8) European Pharmacopoeia 6.0 Chapter 2.2.24 – Absorption Spectrophotometry, Infrared (The European Pharmacopoeia, Strasbourg, France, 2007).
- (9) Rubio, M. J.; Berlanga, V. Cómo Aplicar Las Pruebas Paramétricas Bivariadas t de Student y ANOVA En SPSS. Caso Práctico. *REIRE* **2011**, 5, 83–100.

8. Anexos

Anexo – 1: Resultados obtenidos al realizarse la validación

Muestra	Resultado de coincidencias	Orden de coincidencias	Correlación
NVP ns 51681075LO_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\NVP ns S6797918408_1.sp	1	0.999412
NVP ns 51681075LO_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Sodium bicarbonate ns A0434349_1.sp	2	0.433363
NVP ns 50369809TO_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\NVP ns S6797918408_1.sp	1	0.999076
NVP ns 50369809TO_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Sodium bicarbonate ns A0434349_1.sp	2	0.430731
NVP ns 59488068EO_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\NVP ns S6797918408_1.sp	1	0.999454
NVP ns 59488068EO_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Sodium bicarbonate ns A0434349_1.sp	2	0.437931
NVP 02382875LO_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\NVP ns S6797918408_1.sp	1	0.99979
NVP 02382875LO_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Sodium bicarbonate ns A0434349_1.sp	2	0.437068
NVP ns 05259475LO_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\NVP ns S6797918408_1.sp	1	0.997553
NVP ns 05259475LO_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Sodium bicarbonate ns A0434349_1.sp	2	0.432458
NVP ns 56797918408_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\NVP ns S6797918408_1.sp	1	0.999159
NVP ns 56797918408_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Sodium bicarbonate ns A0434349_1.sp	2	0.430298
NVP ns 22217175LO_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\NVP ns S6797918408_1.sp	1	0.998434
NVP ns 22217175LO_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Sodium bicarbonate ns A0434349_1.sp	2	0.428388
NVP ns 50369809TO_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\NVP ns S6797918408_1.sp	1	0.998781
NVP ns 50369809TO_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Sodium bicarbonate ns A0434349_1.sp	2	0.4281
NVP ns 27630275LO_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\NVP ns S6797918408_1.sp	1	0.999588
NVP ns 27630275LO_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Glicerina ns 0001433106_1.sp	2	0.184403
ATBS 572801_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\ATBS ns S7805067208_1.sp	1	0.97697

ATBS 572801_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Polysorbate 20 lote R079C0_1.sp	2	0.321855
ATBS 633415_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\ATBS ns S7805067208_1.sp	1	0.995862
ATBS 633415_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Polysorbate 20 lote R079C0_1.sp	2	0.317682
ATBS CIM ns 105874_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\ATBS ns S7805067208_1.sp	1	0.972441
ATBS CIM ns 105874_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Polysorbate 20 lote R079C0_1.sp	2	0.340639
ATBS ns 104371_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\ATBS ns S7805067208_1.sp	1	0.991252
ATBS ns 104371_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Poloxamer solid lote R13490_1.sp	2	0.311759
ATBS ns 104378_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\ATBS ns S7805067208_1.sp	1	0.977251
ATBS ns 104378_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Polysorbate 20 lote R079C0_1.sp	2	0.32262
ATBS ns 105880_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\ATBS ns S7805067208_1.sp	1	0.971638
ATBS ns 105880_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Polysorbate 20 lote R079C0_1.sp	2	0.329126
ATBS ns 572802_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\ATBS ns S7805067208_1.sp	1	0.974062
ATBS ns 572802_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Polysorbate 20 lote R079C0_1.sp	2	0.334768
ATBS ns 572803_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\ATBS ns S7805067208_1.sp	1	0.997231
ATBS ns 572803_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Polysorbate 20 lote R079C0_1.sp	2	0.31727
ATBS ns 633198_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\ATBS ns S7805067208_1.sp	1	0.964212
ATBS ns 633198_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Polysorbate 20 lote R079C0_1.sp	2	0.332873
ATBS ns 633410_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\ATBS ns S7805067208_1.sp	1	0.970657
ATBS ns 633410_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Polysorbate 20 lote R079C0_1.sp	2	0.325284
ATBS ns 633411_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\ATBS ns S7805067208_1.sp	1	0.956038
ATBS ns 633411_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Poloxamer solid lote R13490_1.sp	2	0.33148
ATBS ns 633412_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\ATBS ns S7805067208_1.sp	1	0.973953
ATBS ns 633412_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Polysorbate 20 lote R079C0_1.sp	2	0.320214
ATBS ns 633413_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\ATBS ns S7805067208_1.sp	1	0.962403
ATBS ns 633413_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Polysorbate 20 lote R079C0_1.sp	2	0.317476
ATBS ns 633414_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\ATBS ns S7805067208_1.sp	1	0.971308
ATBS ns 633414_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Polysorbate 20 lote R079C0_1.sp	2	0.32377

ATBS ns 633415_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\ATBS ns S7805067208_1.sp	1	0.957759
ATBS ns 633415_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Polysorbate 20 lote R079C0_1.sp	2	0.319989
ATBS ns 660321_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\ATBS ns S7805067208_1.sp	1	0.968074
ATBS ns 660321_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Polysorbate 20 lote R079C0_1.sp	2	0.314116
ATBS ns 660322_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\ATBS ns S7805067208_1.sp	1	0.970951
ATBS ns 660322_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Polysorbate 20 lote R079C0_1.sp	2	0.317898
ATBS ns 660323_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\ATBS ns S7805067208_1.sp	1	0.974474
ATBS ns 660323_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Polysorbate 20 lote R079C0_1.sp	2	0.326461
ATBS ns 660324_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\ATBS ns S7805067208_1.sp	1	0.994709
ATBS ns 660324_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Polysorbate 20 lote R079C0_1.sp	2	0.31663
ATBS ns 660325_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\ATBS ns S7805067208_1.sp	1	0.975244
ATBS ns 660325_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Polysorbate 20 lote R079C0_1.sp	2	0.322915
Glicerina USP ns GLU146886_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Glicerina ns M052C_1.sp	1	0.999654
Glicerina USP ns GLU146886_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Lactic acid ns A0433880_1.sp	2	0.306214
Glicerina USP ns GLU146885_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Glicerina ns M052C_1.sp	1	0.999672
Glicerina USP ns GLU146885_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Lactic acid ns A0433880_1.sp	2	0.302184
Glicerina USP ns GLU1422683_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Glicerina ns M052C_1.sp	1	0.999377
Glicerina USP ns GLU1422683_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Lactic acid ns A0433880_1.sp	2	0.303208
Glicerina USP ns GLU1422641_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Glicerina ns M052C_1.sp	1	0.999306
Glicerina USP ns GLU1422641_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Lactic acid ns A0433880_1.sp	2	0.301091
Glicerina USP ns GLU13554151_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Glicerina ns M052C_1.sp	1	0.999324
Glicerina USP ns GLU13554151_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Lactic acid ns A0433880_1.sp	2	0.299805
Glicerina USP ns 4506517650_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Glicerina ns M052C_1.sp	1	0.998805
Glicerina USP ns 4506517650_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Lactic acid ns A0433880_1.sp	2	0.296288
Glicerina USP ns 21ET0513A1_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Glicerina ns M052C_1.sp	1	0.998846
Glicerina USP ns 21ET0513A1_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Lactic acid ns A0433880_1.sp	2	0.300054
Glicerina USP ns 537107F18B_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Glicerina ns M052C_1.sp	1	0.998621

Glicerina USP ns 537107F18B_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Lactic acid ns A0433880_1.sp	2	0.301943
Glicerina t�cnica D-751_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Glicerina ns M052C_1.sp	1	0.998751
Glicerina t�cnica D-751_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Lactic acid ns A0433880_1.sp	2	0.304438
Glicerina USP ns 12069725_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Glicerina ns M052C_1.sp	1	0.997969
Glicerina USP ns 12069725_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Lactic acid ns A0433880_1.sp	2	0.300056
Glicerina USP ns 66412_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Glicerina ns M052C_1.sp	1	0.998131
Glicerina USP ns 66412_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Lactic acid ns A0433880_1.sp	2	0.302374
Glicerina USP ns 20122295_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Glicerina ns M052C_1.sp	1	0.998072
Glicerina USP ns 20122295_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Lactic acid ns A0433880_1.sp	2	0.295882
Ac.Lactic ns 5132348_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Lactic acid ns A0433880_1.sp	1	0.987808
Ac.Lactic ns 5132348_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\TMPTA ns MKAA0238_1.sp	2	0.332404
Ac. Lactic ns 11408842_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Lactic acid ns A0433880_1.sp	1	0.986445
Ac. Lactic ns 11408842_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\TMPTA ns MKAA0238_1.sp	2	0.329569
Ac. Lactic ns 11411678_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Lactic acid ns A0433880_1.sp	1	0.985992
Ac. Lactic ns 11411678_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\TMPTA ns MKAA0238_1.sp	2	0.331113
Ac. Lactic ns 5122947_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Lactic acid ns A0433880_1.sp	1	0.986112
Ac. Lactic ns 5122947_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\TMPTA ns MKAA0238_1.sp	2	0.332887
Sorbitan Monooleate ns VE2Y220148_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\SMO ns Z23G055_1.sp	1	0.994291
Sorbitan Monooleate ns VE2Y220148_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\SML ns 10225377_1.sp	2	0.883049
Sorbitan Monolaurate ns AI-9-4_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\SML ns 10225377_1.sp	1	0.982747
Sorbitan Monolaurate ns AI-9-4_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\SMO ns Z23G055_1.sp	2	0.900511
Plex 6955 ns 22B1701_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Plex 6955-Av.0_1.sp	1	0.999296
Plex 6955 ns 22B1701_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\PEG-DMA ns MKCP9208_1.sp	2	0.533905
Castor Oil ns 549103_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Castor oil-Av_1.sp	1	0.996807
Castor Oil ns 549103_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\SMO ns Z23G055_1.sp	2	0.775214
Castor oil ns M25MA1021_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Castor oil-Av_1.sp	1	0.997451
Castor oil ns M25MA1021_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\SMO ns Z23G055_1.sp	2	0.76343

Castor oil ns 6260939_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Castor oil-Av_1.sp	1	0.992386
Castor oil ns 6260939_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\SMO ns Z23G055_1.sp	2	0.75994
Castor oil ns 395737_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Castor oil-Av_1.sp	1	0.987711
Castor oil ns 395737_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\SMO ns Z23G055_1.sp	2	0.784154
Castor oil ns 100966_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Castor oil-Av_1.sp	1	0.991556
Castor oil ns 100966_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\SMO ns Z23G055_1.sp	2	0.755982
Aceite de ricino hidrogenado 01-03-2020_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Aceite de ricino hidrogenado-Av.0_1.sp	1	0.956517
Aceite de ricino hidrogenado 01-03-2020_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\SMO ns Z23G055_1.sp	2	0.600212
Aceite de ricino hidrogenado ns A-228-21_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Aceite de ricino hidrogenado-Av.0_1.sp	1	0.997541
Aceite de ricino hidrogenado ns A-228-21_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\SMO ns Z23G055_1.sp	2	0.67451
Aceite de ricino hidrogenado ns RIH147161_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Aceite de ricino hidrogenado-Av.0_1.sp	1	0.983758
Aceite de ricino hidrogenado ns RIH147161_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\SMO ns Z23G055_1.sp	2	0.635823
t-buoh 81884485_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Tert Butanol ns K52702429_1.sp	1	0.995892
t-buoh 81884485_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Aceite de ricino hidrogenado-Av.0_1.sp	2	0.292381
t-BuOH ns B-090_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Tert Butanol ns K52702429_1.sp	1	0.998701
t-BuOH ns B-090_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Aceite de ricino hidrogenado-Av.0_1.sp	2	0.330694
t-BuOH ns B-091_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Tert Butanol ns K52702429_1.sp	1	0.9985
t-BuOH ns B-091_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Aceite de ricino hidrogenado-Av.0_1.sp	2	0.330421
t-BuOH ns B-841_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Tert Butanol ns K52702429_1.sp	1	0.998242
t-BuOH ns B-841_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Aceite de ricino hidrogenado-Av.0_1.sp	2	0.329924
Tert butanol ns k45017329405_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Tert Butanol ns K52702429_1.sp	1	0.998307
Tert butanol ns k45017329405_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Aceite de ricino hidrogenado-Av.0_1.sp	2	0.317514
tert Butanol ns OO220425T1_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Tert Butanol ns K52702429_1.sp	1	0.994704
tert Butanol ns OO220425T1_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Aceite de ricino hidrogenado-Av.0_1.sp	2	0.282971
Tert-butanol ns 001910-21011_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Tert Butanol ns K52702429_1.sp	1	0.972435
Tert-butanol ns 001910-21011_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Aceite de ricino hidrogenado-Av.0_1.sp	2	0.280085
TMPTA ns 200003P040_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\TMPTA ns MKCR3964_1.sp	1	0.999601

TMPTA ns 200003P040_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\G3POTA-Av.0.dx	2	0.549819
TMPTA ns 210006P04_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\TMPTA ns MKCR3964_1.sp	1	0.999619
TMPTA ns 210006P04_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\G3POTA-Av.0.dx	2	0.549211
TMPTA ns 210024P040_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\TMPTA ns MKCR3964_1.sp	1	0.999586
TMPTA ns 210024P040_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\G3POTA-Av.0.dx	2	0.550435
TMPTA ns 210035P040_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\TMPTA ns MKCR3964_1.sp	1	0.999552
TMPTA ns 210035P040_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\G3POTA-Av.0.dx	2	0.553089
TMPTA ns 210049P040_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\TMPTA ns MKCR3964_1.sp	1	0.999601
TMPTA ns 210049P040_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\G3POTA-Av.0.dx	2	0.548577
TMPTA ns 210062P040_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\TMPTA ns MKCR3964_1.sp	1	0.999643
TMPTA ns 210062P040_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\G3POTA-Av.0.dx	2	0.550176
TMPTA ns 6265_001_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\TMPTA ns MKCR3964_1.sp	1	0.999643
TMPTA ns 6265_001_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\G3POTA-Av.0.dx	2	0.55324
TMPTA ns J0178653VS_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\TMPTA ns MKCR3964_1.sp	1	0.999663
TMPTA ns J0178653VS_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\G3POTA-Av.0.dx	2	0.547842
TMPTA ns K0243103VS_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\TMPTA ns MKCR3964_1.sp	1	0.999771
TMPTA ns K0243103VS_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\G3POTA-Av.0.dx	2	0.554829
TMPTA ns K0407218V5_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\TMPTA ns MKCR3964_1.sp	1	0.99961
TMPTA ns K0407218V5_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\G3POTA-Av.0.dx	2	0.55871
TMPTA ns K0503587VS_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\TMPTA ns MKCR3964_1.sp	1	0.999735
TMPTA ns K0503587VS_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\G3POTA-Av.0.dx	2	0.547999
TMPTA ns K1079796VS_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\TMPTA ns MKCR3964_1.sp	1	0.999825
TMPTA ns K1079796VS_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\G3POTA-Av.0.dx	2	0.554906
TMPTA ns K1194154VS_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\TMPTA ns MKCR3964_1.sp	1	0.999907
TMPTA ns K1194154VS_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\G3POTA-Av.0.dx	2	0.556648
TMPTA ns E110ED0905_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\TMPTA ns MKCR3964_1.sp	1	0.999832
TMPTA ns E110ED0905_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\G3POTA-Av.0.dx	2	0.552123

TMPTA ns MKAA0238_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\TMPTA ns MKCR3964_1.sp	1	0.999444
TMPTA ns MKAA0238_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\G3POTA-Av.0.dx	2	0.543798
DLP ns 2102L70115_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\DLP ns A0430539_1.sp	1	0.974511
DLP ns 2102L70115_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Aceite de ricino hidrogenado-Av.0_1.sp	2	0.220005
DLP ns 2002L70138_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\DLP ns A0430539_1.sp	1	0.958006
DLP ns 2002L70138_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Aceite de ricino hidrogenado-Av.0_1.sp	2	0.24893
DLP ns 2007L70045_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\DLP ns A0430539_1.sp	1	0.995523
DLP ns 2007L70045_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Lactic acid ns A0433880_1.sp	2	0.184472
DLP ns 2007L70046_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\DLP ns A0430539_1.sp	1	0.971103
DLP ns 2007L70046_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Aceite de ricino hidrogenado-Av.0_1.sp	2	0.225134
DLP 2007L70356_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\DLP ns A0430539_1.sp	1	0.997399
DLP 2007L70356_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Lactic acid ns A0433880_1.sp	2	0.176077
DLP 2102L70132_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\DLP ns A0430539_1.sp	1	0.997306
DLP 2102L70132_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Lactic acid ns A0433880_1.sp	2	0.177743
DLP ns 2103L70207_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\DLP ns A0430539_1.sp	1	0.956567
DLP ns 2103L70207_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Aceite de ricino hidrogenado-Av.0_1.sp	2	0.250618
DLP ns 2104L70224_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\DLP ns A0430539_1.sp	1	0.956817
DLP ns 2104L70224_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Aceite de ricino hidrogenado-Av.0_1.sp	2	0.243101
DLP 2104270318_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\DLP ns A0430539_1.sp	1	0.997922
DLP 2104270318_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Lactic acid ns A0433880_1.sp	2	0.181477
DLP ns 2106L70435_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\DLP ns A0430539_1.sp	1	0.969908
DLP ns 2106L70435_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Aceite de ricino hidrogenado-Av.0_1.sp	2	0.223356
DLP ns 2106L70459_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\DLP ns A0430539_1.sp	1	0.954023
DLP ns 2106L70459_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Aceite de ricino hidrogenado-Av.0_1.sp	2	0.254563
DLP ns 2107L70521-195_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\DLP ns A0430539_1.sp	1	0.996273
DLP ns 2107L70521-195_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Lactic acid ns A0433880_1.sp	2	0.186033
DLP ns 2109L70595_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\DLP ns A0430539_1.sp	1	0.969303

DLP ns 2109L70595_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Aceite de ricino hidrogenado-Av.0_1.sp	2	0.240565
DLP ns 2109I70650_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\DLP ns A0430539_1.sp	1	0.952364
DLP ns 2109I70650_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Aceite de ricino hidrogenado-Av.0_1.sp	2	0.247265
DLP ns 2110L70690_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\DLP ns A0430539_1.sp	1	0.991768
DLP ns 2110L70690_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Lactic acid ns A0433880_1.sp	2	0.199212
PEG-DMA ns MKCN2609_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\PEG-DMA ns MKCP9208_1.sp	1	0.999071
PEG-DMA ns MKCN2609_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\Plex 6955 ns 21H2502_1.sp	2	0.507614
G3POTA ns Z115GD1483_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\GPTA-Av.0_1.sp	1	0.999691
G3POTA ns Z115GD1483_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\TMPTA ns MKCR3964_1.sp	2	0.560088
G3POTA ns Z23EE0909_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\GPTA-Av.0_1.sp	1	0.999859
G3POTA ns Z23EE0909_1	C:\pel_data\spectra\Biblioteca GMP & Pharma\TMPTA ns MKCR3964_1.sp	2	0.550624

Tabla - 4: Resultados obtenidos en la validación

Anexo – 2: Datos empleados en el estudio de Reproducibilidad

Muestra	Patrón con mayor correlación	Correlación	Analista	Producto	Muestra	Correlación Correcta	Correlación
M1	NVP ns S6797918408	0.999448	Cristina	NVP	NVP	OK	1.00
M2	TMPTA ns MKCR3964	0.999665	Cristina	TMPTA	TMPTA	OK	1.00
M3	DLP ns A0430539	0.979677	Cristina	DLP	DLP	OK	0.98
M4	Plex 6955-Av.	0.998527	Cristina	Plex 6955	Plex 6955	OK	1.00
M5	Tert Butanol ns K52702429	0.999263	Cristina	Tert-Butanol	Tert-Butanol	OK	1.00
M6	Glicerina ns M052C	0.990333	Cristina	Glicerina	Glicerina	OK	0.99
M7	ATBS ns S7805067208	0.996786	Cristina	ATBS	ATBS	OK	1.00
M8	Aceite de ricino hidrogenado-Av.0	0.952905	Cristina	Aceite de ricino hidrogenado	Aceite de ricino hidrogenado	OK	0.95
M9	NVP ns S6797918408	0.993346	Cristina	NVP	NVP	OK	0.99

M10	Castor oil-Av	0.996374	Cristina	Castor oil	Castor oil	OK	1.00
M11	Plex 6955-Av.	0.985508	Cristina	Plex 6955	Plex 6955	OK	0.99
M12	Glicerina ns M052C	0.996176	Cristina	Glicerina	Glicerina	OK	1.00
M13	Lactic acid ns A0433880	0.98004	Cristina	Lactic-Acid	Lactic-Acid	OK	0.98
M14	TMPTA ns MKCR3964	0.997827	Cristina	TMPTA	TMPTA	OK	1.00
M15	Lactic acid ns A0433880	0.978965	Cristina	Lactic-Acid	Lactic-Acid	OK	0.98
M16	ATBS ns S7805067208	0.97341	Cristina	ATBS	ATBS	OK	0.97
M17	DLP ns A0430539	0.937884	Cristina	DLP	DLP	OK	0.94
M18	Castor oil-Av	0.995775	Cristina	Castor oil	Castor oil	OK	1.00
M19	Tert Butanol ns K52702429	0.998095	Cristina	Tert-Butanol	Tert-Butanol	OK	1.00
M20	Aceite de ricino hidrogenado-Av.0	0.93404	Cristina	Aceite de ricino hidrogenado	Aceite de ricino hidrogenado	OK	0.93
M1	NVP ns S6797918408	0.998805	Claudia	NVP	NVP	OK	1.00
M2	TMPTA ns MKCR3964	0.999155	Claudia	TMPTA	TMPTA	OK	1.00
M3	DLP ns A0430539	0.985013	Claudia	DLP	DLP	OK	0.99
M4	Plex 6955-Av	0.999559	Claudia	Plex 6955	Plex 6955	OK	1.00
M5	Tert Butanol ns K52702429	0.999191	Claudia	Tert-Butanol	Tert-Butanol	OK	1.00
M6	Glicerina ns M052C	0.997384	Claudia	Glicerina	Glicerina	OK	1.00
M7	ATBS ns S7805067208	0.976444	Claudia	ATBS	ATBS	OK	0.98
M8	Aceite de ricino hidrogenado-Av.0	0.989511	Claudia	Aceite de ricino hidrogenado	Aceite de ricino hidrogenado	OK	0.99
M9	NVP ns S6797918408	0.998955	Claudia	NVP	NVP	OK	1.00
M10	Castor Oil-Av	0.997826	Claudia	Castor Oil	Castor oil	OK	1.00
M11	Plex 6955-Av	0.998735	Claudia	Plex 6955	Plex 6955	OK	1.00
M12	Glicerina ns M052C	0.998040	Claudia	Glicerina	Glicerina	OK	1.00
M13	Lactic Acid ns A0433880	0.987108	Claudia	Lactic-Acid	Lactic-Acid	OK	0.99
M14	TMPTA ns MKCR3964	0.99973	Claudia	TMPTA	TMPTA	OK	1.00
M15	Lactic Acid ns A0433880	0.987075	Claudia	Lactic-Acid	Lactic-Acid	OK	0.99
M16	ATBS ns S7805067208	0.989873	Claudia	ATBS	ATBS	OK	0.99
M17	DLP ns A0430539	0.983529	Claudia	DLP	DLP	OK	0.98

M18	Castor Oil-Av	0.996793	Claudia	Castor Oil	Castor oil	OK	1.00
M19	Tert Butanol ns K52702429	0.998889	Claudia	Tert-Butanol	Tert-Butanol	OK	1.00
M20	Aceite de ricino hidrogenado-Av.0	0.994154	Claudia	Aceite de ricino hidrogenado	Aceite de ricino hidrogenado	OK	0.99
M1	NVP ns S6797918408	0.998434	Lola	NVP	NVP	OK	1.00
M2	TMPTA ns MKCR3964	0.999677	Lola	TMPTA	TMPTA	OK	1.00
M3	DLP ns A0430539	0.991648	Lola	DLP	DLP	OK	0.99
M4	Plex 6955-Av.	0.99884	Lola	Plex 6955	Plex 6955	OK	1.00
M5	Tert Butanol ns K52702429	0.999192	Lola	Tert-Butanol	Tert-Butanol	OK	1.00
M6	Glicerina ns M052C	0.999260	Lola	Glicerina	Glicerina	OK	1.00
M7	ATBS ns S7805067208	0.97228	Lola	ATBS	ATBS	OK	0.97
M8	Aceite de ricino hidrogenado-Av.0	0.959967	Lola	Aceite de ricino hidrogenado	Aceite de ricino hidrogenado	OK	0.96
M9	NVP ns S6797918408	0.998696	Lola	NVP	NVP	OK	1.00
M10	Castor oil-Av	0.988449	Lola	Castor oil	Castor oil	OK	0.99
M11	Plex 6955-Av.	0.998119	Lola	Plex 6955	Plex 6955	OK	1.00
M12	Glicerina ns M052C	0.999622	Lola	Glicerina	Glicerina	OK	1.00
M13	Lactic acid ns A0433880	0.98665	Lola	Lactic-Acid	Lactic-Acid	OK	0.99
M14	TMPTA ns MKCR3964	0.99973	Lola	TMPTA	TMPTA	OK	1.00
M15	Lactic acid ns A0433880	0.986954	Lola	Lactic-Acid	Lactic-Acid	OK	0.99
M16	ATBS ns S7805067208	0.977652	Lola	ATBS	ATBS	OK	0.98
M17	DLP ns A0430539	0.958654	Lola	DLP	DLP	OK	0.96
M18	Castor oil-Av	0.990751	Lola	Castor oil	Castor oil	OK	0.99
M19	Tert Butanol ns K52702429	0.997154	Lola	Tert-Butanol	Tert-Butanol	OK	1.00
M20	Aceite de ricino hidrogenado-Av.0	0.984416	Lola	Aceite de ricino hidrogenado	Aceite de ricino hidrogenado	OK	0.98
M1	NVP ns S6797918408	0.998903	Sergio	NVP	NVP	OK	1.00
M2	TMPTA ns MKCR3964	0.999724	Sergio	TMPTA	TMPTA	OK	1.00
M3	DLP ns A0430539	0.969561	Sergio	DLP	DLP	OK	0.97
M4	Plex 6955-Av.	0.997733	Sergio	Plex 6955	Plex 6955	OK	1.00
M5	Tert Butanol ns K52702429	0.998783	Sergio	Tert-Butanol	Tert-Butanol	OK	1.00

M6	Glicerina ns M052C	0.999112	Sergio	Glicerina	Glicerina	OK	1.00
M7	ATBS ns S7805067208	0.976913	Sergio	ATBS	ATBS	OK	0.98
M8	Aceite de ricino hidrogenado-Av.0	0.971857	Sergio	Aceite de ricino hidrogenado	Aceite de ricino hidrogenado	OK	0.97
M9	NVP ns S6797918408	0.998896	Sergio	NVP	NVP	OK	1.00
M10	Castor oil-Av	0.995980	Sergio	Castor oil	Castor oil	OK	1.00
M11	Plex 6955-Av.	0.999078	Sergio	Plex 6955	Plex 6955	OK	1.00
M12	Glicerina ns M052C	0.99960	Sergio	Glicerina	Glicerina	OK	1.00
M13	Lactic acid ns A0433880	0.986617	Sergio	Lactic-Acid	Lactic-Acid	OK	0.99
M14	TMPTA ns MKCR3964	0.999677	Sergio	TMPTA	TMPTA	OK	1.00
M15	Lactic acid ns A0433880	0.986225	Sergio	Lactic-Acid	Lactic-Acid	OK	0.99
M16	ATBS ns S7805067208	0.977181	Sergio	ATBS	ATBS	OK	0.98
M17	DLP ns A0430539	0.98658	Sergio	DLP	DLP	OK	0.99
M18	Castor oil-Av	0.997474	Sergio	Castor oil	Castor oil	OK	1.00
M19	Tert Butanol ns K52702429	0.999096	Sergio	Tert-Butanol	Tert-Butanol	OK	1.00
M20	Aceite de ricino hidrogenado-Av.0	0.988823	Sergio	Aceite de ricino hidrogenado	Aceite de ricino hidrogenado	OK	0.99

Tabla - 5: Datos empleados en el estudio de Reproducibilidad

