

3.2.P.5.3 Validación de procedimientos analíticos (Ketosteril, tabletas recubiertas)

3.2.P.5.3 Reporte de validación de la determinación de 2-Propanol en Ketosteril tabletas recubiertas (CG)

1. OBJETIVO

Presentar los resultados obtenidos en la validación del método analítico para la determinación cuantitativa de 2-Propanol en Ketosteril tabletas recubiertas, por CG utilizando detección FID.

2. DEFINICIONES Y ABREVIACIONES

QC – Control de calidad
 CG – Cromatografía gaseosa
 RSD – Desviación estándar relativa
 FID – Detector de ionizador de llama
 rt – Tiempo de retención
 Rel. Resol. – Resolución relativa
 USP – Farmacopea Estadounidense

3. RESULTADOS

3.1. Descripción de la fórmula

3.1.1 Sustancia activa

Aminoácidos, Ceto-ácidos e Hidroxiácidos descriptos en la formulación (punto 3.1.3)

3.1.2 Forma farmacéutica

Tabletas recubiertas

3.1.3 Formulación

- Composición de los núcleos

Componentes	Cantidad por unidad (mg)	Función
Alfa-cetoisoleucina, calcio**	67,0**	Ingrediente activo
Alfa-cetoleucina, calcio**	101,0**	Ingrediente activo
Alfa-cetofenilalanina, calcio**	68,0**	Ingrediente activo
Alfa-cetovalina, calcio**	86,0**	Ingrediente activo
Alfa-hidroximetionina, calcio**	59,0**	Ingrediente activo
Alcohol isopropil*	101,666 - 108,333 0,1295 - 0,138 ml	Solvente
Agua purificada*	0,001666 – 0,005	Solvente
Povidona	26,3	Agente de granulación
Macrogol 6000	7,8	Lubricante
Acetato de L-Lisina	105,0	Ingrediente activo

3.2.P.5.3 Validación de procedimientos analíticos (Ketosteril, tabletas recubiertas)

Componentes	Cantidad por unidad (mg)	Función
L-Treonina	53,0	Ingrediente activo
L-Triptófano	23,0	Ingrediente activo
L-Histidina	38,0	Ingrediente activo
L-Tirosina	30,0	Ingrediente activo
Alcohol Isopropil*	0,0375 0,0478 ml	Solvente
Agua purificada*	0,0015	Solvente
Povidona	16,883	Agente de granulación
Macrogol 6000	5,0	Lubricante
Almidón de maíz***	Máx. 44	Relleno, agente de equilibrio
Talco	19,6	Agente de liberación
Silica coloidal anhidro	4,40	Regulador de flujo
Crospovidona	6,0	Explosivo
Estearato de magnesio	15,0	Lubricante
Total		~775

*eliminado durante el proceso

**el contenido de agua es tenido en cuenta para alcanzar el 100% del contenido del ingrediente activo en cada lote

***varía, al ser utilizado como un agente de relleno para alcanzar un peso constante en el núcleo de las tabletas con un contenido específico continuo de ingrediente activo

- Composición del recubrimiento

Componentes	Cantidad por unidad (mg)	Función
Alcohol isopropil*	70 89,166 ml	Solvente
Talco	9,067	Agente de liberación
Dioxido de titanio	7,40	Pigmento
Macrogol 6000	5,0	Lubricante
Agua purificada*	0,0015	Solvente
Quinolina Amarilla E 104	0,72	Pigmento
Agua purificada*	6	Solvente
Eudragit E 12,5% m/m**	47,2 (5,9 sólido)	Compuesto de revestimiento
Triacetin	0,43	Plastificante
Macrogol 6000	0,28	Lubricante
Agua purificada*	0,22	Solvente

3.2.P.5.3 Validación de procedimientos analíticos (Ketosteril, tabletas recubiertas)

Componentes	Cantidad por unidad (mg)	Función
Alcohol isopropil*	2,017	Solvente
	0,0025688 ml	
Total		~25

*eliminado durante el proceso

**eliminado en parte durante el proceso

3.2 Método**3.2.1 Reactivos y materiales**

2-Propanol (USP, lote: IOL393, validez: 29 Octubre 2016, actividad: 100.0%)

Acetona (UPS, lote: H0K208, validez: 29 Octubre 2016, actividad: 100.0%)

Tolueno (Merck, lote: K44153525 306, validez: 31 Enero 2018)

Alfa-Cetoisoleucina de calcio (Lote: 160400155, validez: Noviembre 2018)

Alfa-Cetoleucina de calcio (Lote: 150300321, validez: Mayo 2017)

Alfa-Cetoalvalina de calcio (Lote: 160600190, validez: Febrero 2018)

Alfa-Cetofenilalanina de calcio (Lote: 150900484, validez: Junio 2018)

Alfa-Hidroximetionina de calcio (Lote: 160500145, validez: Octubre 2018)

Acetato de L-Lisina (Lote: 160500195, validez: 02 Febrero 2019)

L-Tirosina (Lote: 160300620, validez: Febrero 2020)

L-Triptofano (Lote: 16030029, validez: 26 Febrero 2018)

L-Treonina (Lote: 160400321, validez: 17 Marzo 2022)

L-Histidina (Lote: 16040068, validez: 17 Noviembre 2018)

Povidone (Lote: 160300498, validez: Junio 2018)

Magrocol 6000 (Lote: 160100494, validez: 16 Julio 2019)

Almidón de maíz (Lote: 150500002, validez: Febrero 2017)

Talco (Lote: 160100099, validez: 18 Junio 2018)

Silicona coloidal anhidra (Lote: 160100499, validez: 21 Octubre 2017)

Crospovodina (Lote: 160100468, validez: 28 Octubre 2018)

Estearato de Magnesio (Lote: 160100057, validez: Octubre 2017)

Dióxido de Titanio (Lote: 150800228, validez: 07 Julio 2018)

Amarillo de Quinoleína E 104 (Lote: 150900495, validez: 23 Julio 2020)

Triacetina (Lote: 150400580, validez: Septiembre 2019)

Ketosteril tabletas (Lote: 18N2169, validez: Junio 2019)

Recipientes con espacio de cabeza CG (Agilent, lote: 849-10-15/001)

Junta de goma y tapas de espacio de cabeza (Agilant, lote: AGI 180740)

Papel de filtro 12-15 µm (VWR, lote: 016025)

Capilar 2µL (Camag 022.7727)

Pipetas volumétricas

3.2.2 Equipamiento

5140-II-0201: Cromatógrafo de gas equipado con detector de ionización de llama, auto-inyector con espacio de cabeza y software de adquisición y tratamiento de datos.

5140-II-9010 y 5140-II-9004: Balanzas

5140-II-0359, 5140-II-0360, 4951NI1015: Micropipetas

3.2.P.5.3 Validación de procedimientos analíticos (Ketosteril, tabletas recubiertas)

3.2.3 Solución estándar madre (200%): Linealidad de alto rango – estándar de referencia

1543.1 mg (2mL) de 2-Propanol fueron diluidos a 4mL con tolueno.

Concentración 2-Propanol = 0,5 mL/mL (385,775 mg/mL)

3.2.4 Solución estándar de trabajo: Linealidad de alto rango

Las soluciones estándar de trabajo fueron preparadas por dilución de la solución estándar madre, de acuerdo a la tabla 1.

Conc. (%)	Volumen de la solución estándar madre (µL)	Volumen de acetona (µL)	Volumen de tolueno (µL)	Concentración de 2-propanol (ppm) en µL
9,64	50	250	700	192,89
28,93	150	250	600	578,66
48,22	250	250	500	964,44
77,16	400	250	350	1543,10
86,80	450	250	300	1735,99
96,44	500	250	250	1928,88
106,09	550	250	200	2121,76
115,73	600	250	150	2314,65
144,67	750	250	0	2893,31

Tabla 1: Soluciones estándar de trabajo – linealidad de alto rango

Para cada nivel de concentración, se coloca un papel de filtro de $\pm 1 \text{ cm}^2$ en la boca del vial. Se colocaron 2,0 µL de las soluciones estándar anteriores en el papel de filtro y el recipiente fue inmediatamente cerrado con junta de goma butil/PTFE. Cada nivel de concentración fue preparado por triplicado.

3.2.5 Solución estándar madre (200%): linealidad de alto rango – efecto matriz

746.4 mg (1 mL) de 2-Propanol fueron diluidos a 2 mL con tolueno.

Concentración 2-Propanol = 0,5 mL/mL (373,2 mg/mL)

3.2.6 Solución estándar de trabajo: Linealidad de alto rango – efecto matriz

Las soluciones estándar de trabajo fueron preparadas por dilución de la solución estándar madre, de acuerdo a la tabla 2.

Nivel (%)	Volumen de la solución estándar madre (µL)	Volumen de acetona (µL)	Volumen de tolueno (µL)	Concentración de 2-propanol (ppm) en µL
9,33	25	125	350	186,60
27,99	75	125	300	559,80
46,65	125	125	250	933,00

3.2.P.5.3 Validación de procedimientos analíticos (Ketosteril, tabletas recubiertas)

Nivel (%)	Volumen de la solución estándar madre (µL)	Volumen de acetona (µL)	Volumen de tolueno (µL)	Concentración de 2-propanol (ppm) en µL
74,64	200	125	175	1492,80
83,97	225	125	150	1679,40
93,30	250	125	125	1866,00
102,63	275	125	100	2052,60
111,96	300	125	75	2239,20
139,95	375	125	0	2799,00

Tabla 2: soluciones estándar de trabajo – linealidad de alto rango (efecto matriz)

Para cada nivel de concentración, se coloca un papel de filtro de $\pm 1 \text{ cm}^2$ en la boca del vial y se agregaron cantidades de placebo correspondientes a 100% de composición. Se colocaron 2,0 µL de las soluciones estándar anteriores en el filtro de papel y el recipiente fue inmediatamente tapado con una junta de goma butil/PTFE. Cada nivel de concentración fue preparado por triplicado.

3.2.7 Solución estándar

Se pesaron con precisión 400 µL de 2-propanol en un recipiente. Se agregaron 400 µL de acetona y 800 µL de tolueno al recipiente, mezclando bien.

En la boca del vial se colocó un papel de filtro de $\pm 1 \text{ cm}^2$. Se colocaron 2,0 µL de la solución estándar anterior en el papel de filtro y el recipiente fue inmediatamente cerrado con una junta de goma butil/PTFE.

3.2.8 Muestras

Cerca de 10 tabletas de Ketosteril fueron finamente molidas y se pesaron con precisión 200 mg del polvo en un vial conteniendo un papel de filtro ($\pm 1 \text{ cm}^2$) en la boca. El recipiente fue cerrado inmediatamente con una junta de goma butil/PTFE.

3.2.9 Blanco

Se agregó un papel de filtro ($\pm 1 \text{ cm}^2$) en la boca del vial y el recipiente fue inmediatamente cerrado con una junta de goma butil/PTFE.

3.2.10 Condiciones cromatográficasCondiciones de la boca:

Temperatura del recipiente: 90°C

Temperatura del bucle: 95°C

Temperatura de la línea de transferencia: 105°C

Tiempo de equilibrio del recipiente: 9 minutos

Tiempo de ciclo de CG: 34 minutos

Condiciones CG:

Columna: Teknokroma TRB-624, 30mmx0,32mm, 1,8µm, Nro. de Parte: TR-601833, Nro. de Serie: NF-15839, Nro. Interno: GC10/15

3.2.P.5.3 Validación de procedimientos analíticos (Ketosteril, tabletas recubiertas)

Columna: Teknokroma TRB-624, 30mmx0,32mm, 1,8µm, Nro. de Parte: TR-601833, Nro. de Serie: NF-38228, Nro. Interno: GC15/16

Gas portador: Helio

Presión inicial/caudal: 3,50

Modo: Caudal constante

División: 10:1

Detector: Ionización de llama

Temperatura de inyección: 140°C

Temperatura del horno

35°C (5 min)

10°C/min incrementar a 180°C

80°C (6 min)

15°C/min incrementar a 180°C

180°C (3 min)

Temperatura de detección: 200°C

Volumen de inyección: 1000 µL

Tiempo de ejecución: 25,17 minutos

3.3 Parámetros de validación

3.3.1 Adecuación del sistema

Criterio de aceptación:

Solución estándar:

- La resolución entre los picos debido a acetona y 2-Propanol no deben ser menor a 2.
- La RSD entre 5 inyecciones de solución de referencia no debe ser mayor a 10%.

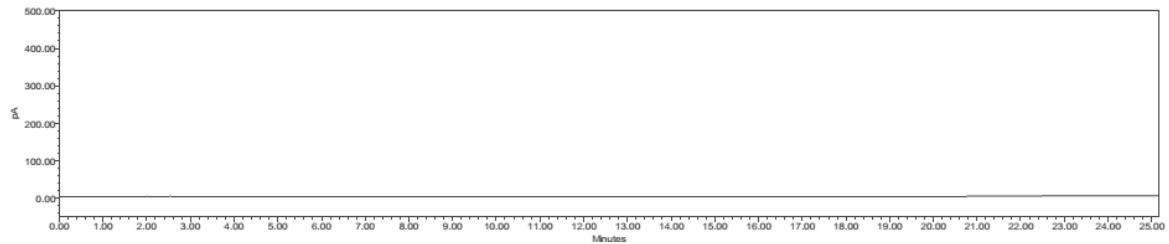
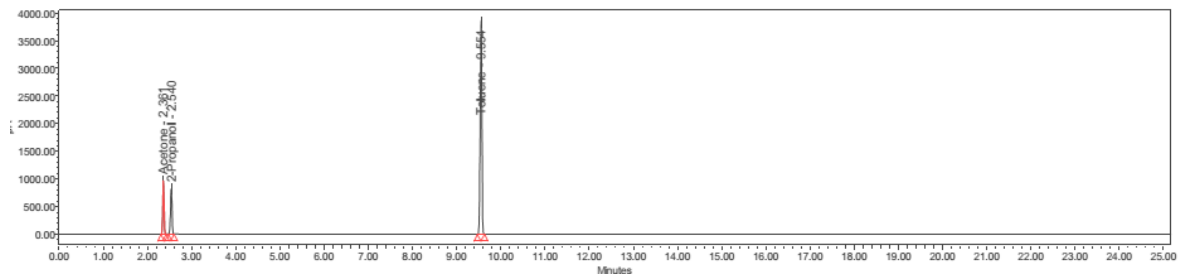
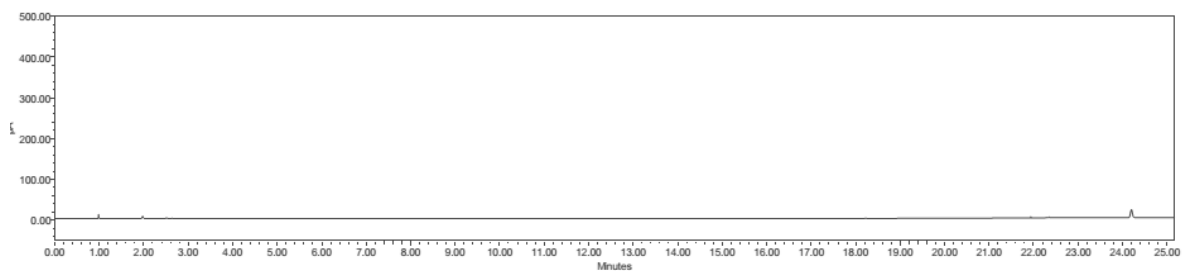
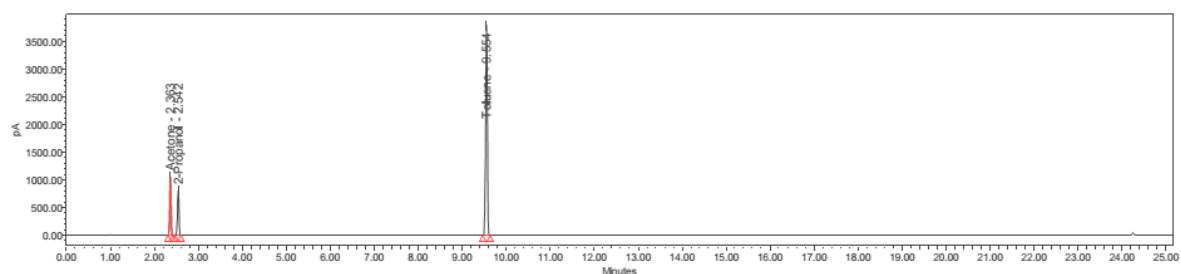
Solución muestra:

- La RSD entre las preparaciones de las muestras no debe ser mayor a 10%.

	RSD	Resolución
Estándar	1,5	2,96
Muestra	7,0	-

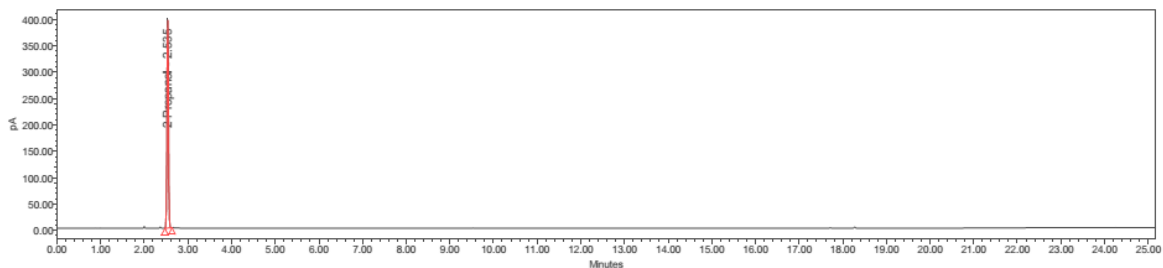
3.3.2 Selectividad

La solución placebo no interfiere en la determinación cuantitativa de 2-Propanol.

3.2.P.5.3 Validación de procedimientos analíticos (Ketosteril, tabletas recubiertas)**3.3.2.1 Blanco****Cromatograma 1****3.3.2.2 Solución estándar****Cromatograma 2****3.3.2.3 Solución Placebo****Cromatograma 3****3.3.2.4 Placebo + solución estándar****Cromatograma 4**

3.2.P.5.3 Validación de procedimientos analíticos (Ketosteril, tabletas recubiertas)

3.3.2.5 Muestra



Cromatograma 5

3.3.3 Linealidad

3.3.3.1 2-Propanol estándar de referencia

Criterio de aceptación:

- $R \geq 0.990$
- Los residuos deben tener una distribución aleatoria y el intervalo de confianza de 95% o 99% para el término intercepto debe contener un cero
- Cálculo del límite de cuantificación: $QL = 10 \times S^1/m$
- Cálculo del límite de detección: $DL = 3,3 \times S/m$

Concentración 2-Propanol (%)	Concentración 2 Propanol (ppm)	Área
9,64	192,89	194,08
		186,19
		192,53
	Promedio	190,93
	RSD (%)	2,19
28,93	578,66	676,70
		634,17
		664,38
	Promedio	658,42
	RSD (%)	3,32
48,22	964,44	1053,66
		1021,31
		1071,31

¹S = Error estándar de regresión
m= pendiente

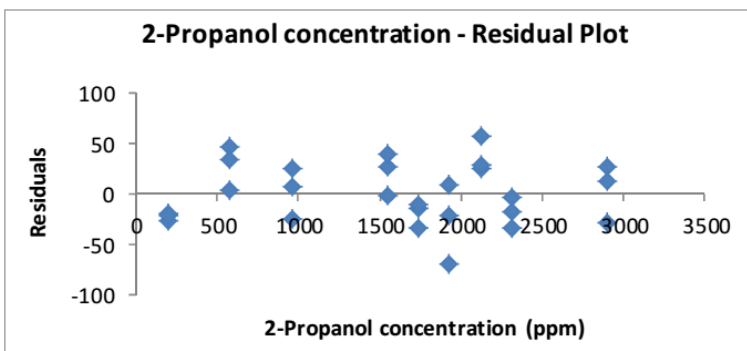
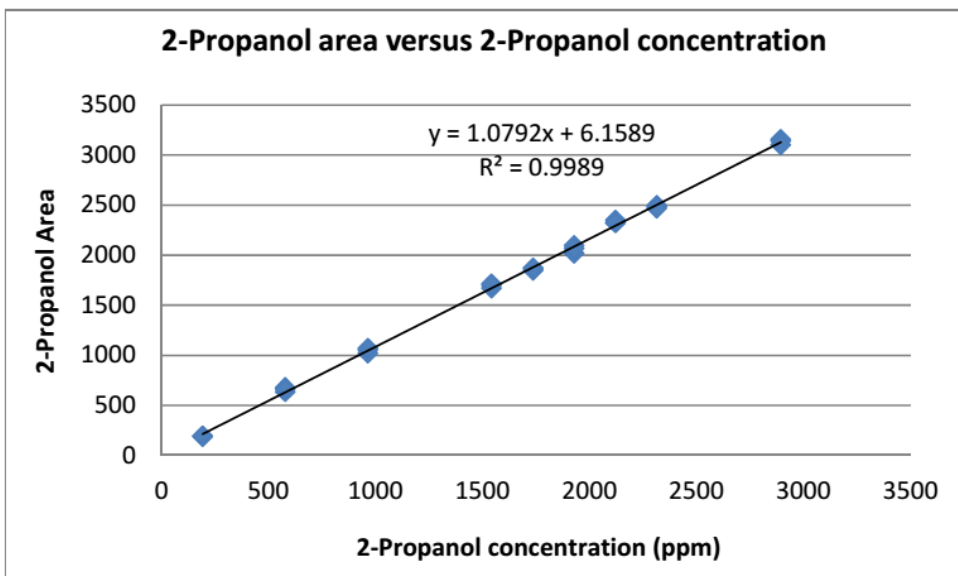
3.2.P.5.3 Validación de procedimientos analíticos (Ketosteril, tabletas recubiertas)

Concentración 2-Propanol (%)	Concentración 2 Propanol (ppm)	Área
	Promedio	1048,76
	RSD (%)	2,42
77,16	1543,10	1668,54
		1698,04
		1710,78
	Promedio	1692,45
	RSD (%)	1,28
86,80	1735,99	1845,58
		1864,48
		1868,17
	Promedio	1859,41
	RSD (%)	0,65
96,44	1928,88	2096,16
		2016,96
		2066,51
	Promedio	2059,88
	RSD (%)	1,94
106,09	2121,76	2321,12
		2352,24
		2323,27
	Promedio	2332,21
	RSD (%)	0,75
115,73	2314,65	2499,48
		2485,94
		2469,48
	Promedio	2484,97
	RSD (%)	0,60
144,67	2893,31	3154,97
		3140,57
		3100,10
	Promedio	3131,88
	RSD (%)	0,91

Kipdips 22,886/3.0

3.2.P.5.3 Validación de procedimientos analíticos (Ketosteril, tabletas recubiertas)

3.2.P.5.3 Validación de procedimientos analíticos (Ketosteril, tabletas recubiertas)



Ecuación de regresión lineal ($y = 1,0792x + 6,1589$)

$m = 1,0792$

$b = 6,1589$

$r = 0,9994$

Error estándar de regresión = 30,54

$QL = 282,99$ ppm

$DL = 93,39$ ppm

3.3.3.2 Efecto matriz: placebo + estándares de referencia de aminoácidos

Criterio de aceptación:

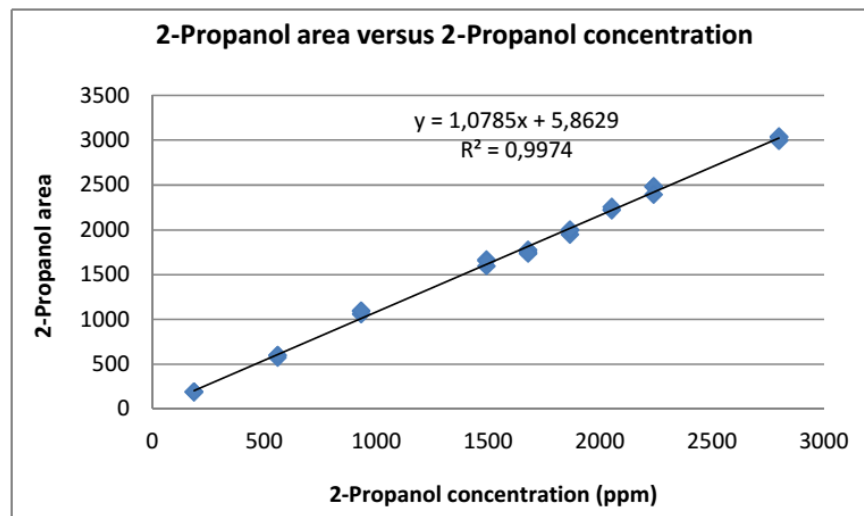
- $r \geq 0.990$
- Los residuos deben tener una distribución aleatoria y el intervalo de confianza de 95% o 99% para el término intercepto debe contener un cero.

3.2.P.5.3 Validación de procedimientos analíticos (Ketosteril, tabletas recubiertas)

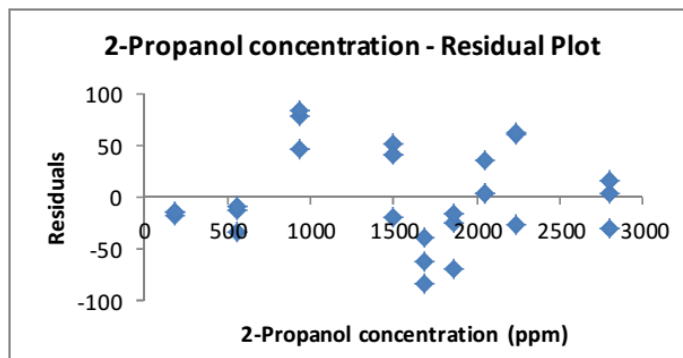
Concentración 2-Propanol (%)	Concentración 2 Propanol (ppm)	Área
9,33	186,60	192,72
		188,08
		192,15
	Promedio	190,98
	RSD (%)	1,32
27,99	559,80	574,85
		596,79
		600,66
	Promedio	590,77
	RSD (%)	2,36
46,65	933,00	1090,70
		1058,03
		1095,91
	Promedio	1081,55
	RSD (%)	1,90
74,64	1492,80	1596,20
		1667,73
		1665,89
	Promedio	1639,94
	RSD (%)	2,34
83,97	1679,40	1753,32
		1777,75
		1733,19
	Promedio	1754,75
	RSD (%)	1,27
93,30	1866,00	1947,22
		1993,40
		2001,44
	Promedio	1980,69
	RSD (%)	1,48
102,63	2052,60	2223,00
		2223,36

3.2.P.5.3 Validación de procedimientos analíticos (Ketosteril, tabletas recubiertas)

Concentración 2-Propanol (%)	Concentración 2 Propanol (ppm)	Área
		2255,69
	Promedio	2234,02
	RSD (%)	0,84
111,96	2239,20	2480,94
		2483,34
		2393,23
	Promedio	2452,50
	RSD (%)	2,09
139,95	2799,00	3028,06
		3039,41
		2993,33
	Promedio	3020,27
	RSD (%)	0,79



3.2.P.5.3 Validación de procedimientos analíticos (Ketosteril, tabletas recubiertas)



Ecuación de regresión lineal ($y = 1,0785x + 5,8629$)

$m = 1,0785$

$b = 5,8629$

$r = 0,9987$

3.3.3.3 Análisis estadístico

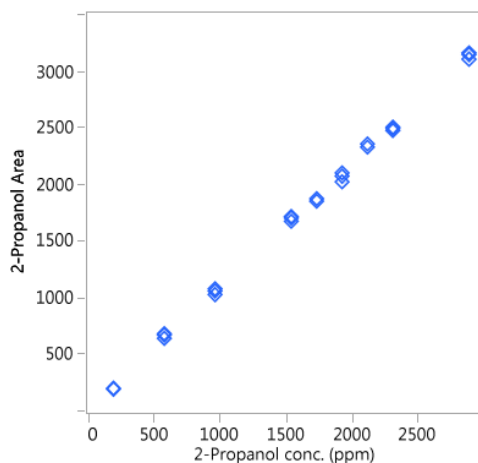
El análisis estadístico fue realizado con la asistencia del software estadístico JMP Statistical Discovery de SAS, versión 12 y XLSTAT 2016.

Gráficos de dispersión:

Para evaluar si hay una relación lineal entre la concentración (ppm) y el área del analito se construyeron dos gráficos de dispersión, uno en el cual el analito es el único componente de la muestra, y otro en el cual el analito es una matriz compleja con otros componentes.

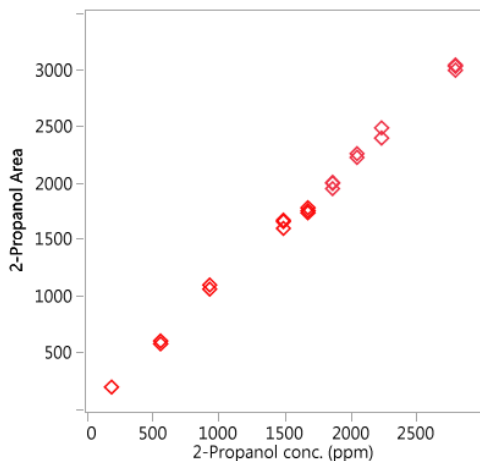
Para cada una de las nuevas concentraciones se observaron 3 áreas diferentes.

En el caso donde el analito es el único componente de la muestra, el siguiente gráfico de dispersión muestra una relación lineal perfecta.



3.2.P.5.3 Validación de procedimientos analíticos (Ketosteril, tabletas recubiertas)

También se observa una casi perfecta relación lineal entre Área y Concentración (ppm) cuando el analito es contenido en una matriz compleja.



Coeficiente de correlación de Pearson

Considerando la correlación revelada en los dos gráficos de dispersión, los coeficientes de correlación de Pearson fueron estimados para comprender si éstos eran mayores que el mínimo aceptable, 0.990, lo cual fue verificado. De esta forma se encontró que esta suposición es satisfecha porque cuando el analito es el único componente en la muestra $r = 0.9994$ y cuando está en una matriz compleja con otros componentes $r = 0.9987$.

Ajuste de la regresión lineal utilizando el método de los Mínimos Cuadrados

Luego de haber verificado la correlación lineal entre las dos variables, a través de un gráfico de dispersión y su coeficiente de correlación de Pearson ($r \geq 0.990$), dos líneas de regresión lineal fueron estimadas, una cuando el analito es el único componente de la muestra,

$$\text{Área} = a_1 + b_1 \times \text{Concentración (ppm)}$$

y otra cuando el analito es contenido en una matriz compleja,

$$\text{Área} = a_2 + b_2 \times \text{Concentración (ppm)}$$

Los interceptos a_1 y a_2 y las pendientes b_1 y b_2 , estimados fueron obtenidos del método de los mínimos cuadrados.

En el primer caso,

	Coefficients	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
Intercept	6,158	12,830	0,480	0,635	-20,266	32,582
Conc. (ppm)	1,079	0,007	150,070	0,000	1,064	1,094

En el segundo caso,

	Coefficients	Std. Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%
Intercept	5,863	19,102	0,310	0,761	-33,479	45,205
Conc. (ppm)	1,079	0,011	97,450	0,000	1,056	1,101

3.2.P.5.3 Validación de procedimientos analíticos (Ketosteril, tabletas recubiertas)

Por lo tanto, tenemos:

$$a_1 = 6,158, b_1 = 1,079 \quad a_2 = 5,863, b_2 = 1,079$$

Estos estimados asumen que el error en los valores de *Concentración (ppm)* es constante, es decir, se asume que existe homocedasticidad. Esto significa que todos los puntos *Área x Concentración (ppm)* tienen igual peso en el cálculo de estimados. Debajo, se aplicará la prueba de Crochan para determinar si esta suposición es válida.

Prueba C de Crochan

La prueba C de Crochan fue aplicada con el objetivo de evaluar la igualdad de las varianzas de la variable dependiente del modelo ajustado, Área.

En ambas situaciones, si el analito es el único componente o está contenido en una matriz, la hipótesis de homocedasticidad no fue rechazada, respectivamente, $p = 0.320$ y $p = 0.207$.

Por lo tanto, se concluye que los estimados hallados con el método de los mínimos cuadrados ordinarios son válidos. Las siguientes tablas muestran los resultados de la prueba:

- En el primer caso

C (valor observado)	0.341
C (valor crítico)	0.477
Valor p (unilateral)	0.320
alfa	0.05

- En el segundo caso

C (valor observado)	0.376
C (valor crítico)	0.477
Valor p (unilateral)	0.207
alfa	0.05

ANOVA y el coeficiente de determinación (R^2)

El objetivo del análisis de varianza, ANOVA, es evaluar si la regresión lineal evaluada explica de forma satisfactoria la relación entre Área y Concentración (ppm). En ANOVA, la prueba F es utilizada para probar si las pendientes de cada línea estimada, b_1 y b_2 , difieren de cero.

El coeficiente de determinación, R^2 , da la proporción de la variabilidad en los datos que es correctamente explicada por la regresión lineal.

Para el analito siendo el único componente, tenemos:

ANOVA

	SS	df	MS	F	p-value
Regression	20999899	1	20999899	22519,713	0,000
Residual	23313	25	933		
Total	21023212	26			

3.2.P.5.3 Validación de procedimientos analíticos (Ketosteril, tabletas recubiertas)

Regression Statistics	
R Square	0,9989
Adjusted R Square	0,9988
Standard Error	30,54
Observations	27

Esto conduce a la conclusión de que la hipótesis de la pendiente cero es rechazada $p = 0.000 < 0.05$, y por otro lado, la línea puede explicar el 99.89% de la variabilidad de los datos.

ANOVA					
	SS	df	MS	F	p-value
Regression	19630277	1	19630277	9496,5854	0,000
Residual	51677	25	2067		
Total	19681954	26			

Regression Statistics	
R Square	0,9974
Adjusted R Square	0,9973
Standard Error	45,47
Observations	27

Esto conduce a la conclusión de que la hipótesis de la pendiente cero es rechazada $p = 0.000 < 0.05$, y por otra parte, la línea puede explicar el 99.74% de la variabilidad de los datos.

Kipdips 22,886/3.0

3.2.P.5.3 Validación de procedimientos analíticos (Ketosteril, tabletas recubiertas)

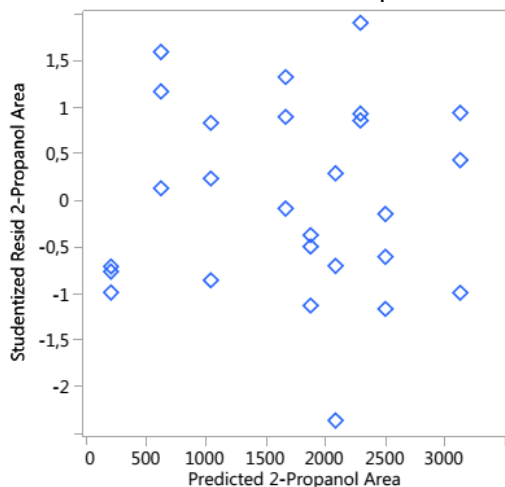
Residuos

Los residuos son extremadamente útiles para chequear si el modelo de una línea de regresión en particular es apropiado para los datos. Por lo tanto debe construirse un gráfico de dispersión en el cual los residuos y valores predictivos de Área son cruzados. Para ser apropiado en la regresión lineal es necesario que el gráfico de distribución no produzca un patrón marcado.

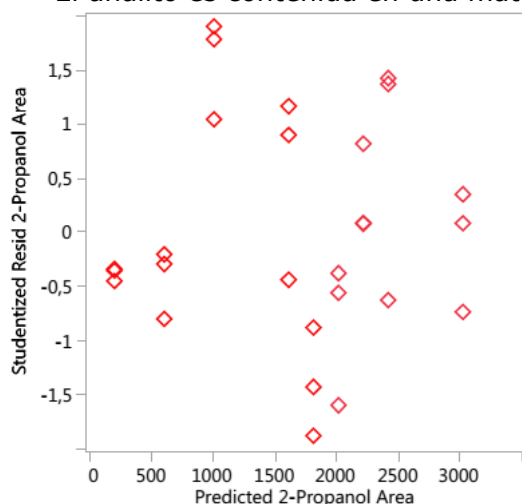
Los gráficos de dispersión para las dos regresiones lineales estimadas son:

3.2.P.5.3 Validación de procedimientos analíticos (Ketosteril, tabletas recubiertas)

- El analito es el único componente de la muestra



- El analito es contenida en una matriz compleja



Los gráficos de distribución muestran que hay un ajuste de buena calidad de las regresiones lineales.

Prueba de Paralelismo F

El objetivo de la prueba de paralelismo es probar la hipótesis nula de igualdad de pendientes de las dos líneas de regresión estimadas. La intención es probar la hipótesis nula $b_1 = b_2$ versus la hipótesis alternativa $b_1 \neq b_2$. Si la hipótesis nula no es rechazada, se puede concluir que el efecto de los componentes de la matriz no son significativos.

Los estimados obtenidos son:

$$b_1 = 1,079$$

$$b_2 = 1,079$$

La siguiente tabla indica los resultados de la prueba:

<i>Paralell Fit SSE</i>	<i>Full SSE</i>	<i>NDF</i>	<i>DDF</i>	<i>F Ratio</i>	<i>Prob > F</i>
74993,44	74989,99	1	50	0,002	0,962

3.2.P.5.3 Validación de procedimientos analíticos (Ketosteril, tabletas recubiertas)

Estos resultados muestran que la igualdad de las pendientes de las líneas de regresión no es rechazada, $p = 0.962 > 0.05$; por lo tanto, no existe evidencia estadística al nivel de 5% para afirmar que la matriz tiene un efecto significativo.

3.3.4 Precisión

Criterio de aceptación:

- RSD entre los resultados de las determinaciones por el mismo analista no debe exceder 10%
- RSD entre los resultados de los dos analistas no debe exceder 10%

Sample	Analyst 1: SAC Date: 06 Oct. 2016 Assay (ppm)	Analyst 2: VG Date: 03 Oct. 2016 Assay (ppm)
A1	974,84	1034,26
A2	913,39	895,57
A3	912,69	931,07
A4	888,13	904,89
A5	810,45	922,82
A6	782,30	837,10
Average (ppm)	880,30	920,95
RSD (%)	8,13	7,02

Media entre analistas = **900,6 ppm**

RSD entre analistas = **7,6%**

3.3.4.2 Repetitividad

Criterio de aceptación:

- La RSD entre las seis mediciones no debe exceder 10%

Sample	Assay (ppm)
A1	1034,26
A2	895,57
A3	931,07
A4	904,89
A5	922,82
A6	837,10
Average (%)	920,95
RSD (%)	7,02

3.2.P.5.3 Validación de procedimientos analíticos (Ketosteril, tabletas recubiertas)

3.3.4.3. Repetitividad del instrumental

Criterio de aceptación:

- La RSD entre las áreas no debe ser mayor a 10%

Injection	2-Propanol Area
1	2181,22
2	2239,77
3	2171,70
4	2261,42
5	2168,29
6	2249,21
7	2167,33
8	2191,80
9	2144,33
10	2144,95
Average	2192,00
RSD (%)	1,96

3.3.5 Exactitud

Criterio de aceptación:

- La RSD entre los resultados para tres determinaciones de cada nivel debe ser menor o igual a 10%.
- El porcentaje de recupero debe ser entre 80% y 110%.

Nivel (%)	Concentración teórica de 2 Propanol (2µl)(ppm)	Concentración experimental de 2 Propanol (2µl)(ppm)	Recuperación (%)
10	202,00	198,03	98,04
	206,00	185,18	89,89
	198,00	170,71	86,22
	Promedio		91,38
	RSD (%)		6,62
80	1484,00	1263,16	85,12
	1482,00	1258,25	86,66
	1478,00	1275,23	86,28
	Promedio		86,02
	RSD (%)		0,93

3.2.P.5.3 Validación de procedimientos analíticos (Ketosteril, tabletas recubiertas)

Nivel (%)	Concentración teórica de 2 Propanol (2µl)(ppm)	Concentración experimental de 2 Propanol (2µl)(ppm)	Recuperación (%)
10	1798,00	1703,49	94,74
	1998,00	1727,28	86,45
	1922,00	1687,60	87,80
	Promedio		87,67
	RSD (%)		4,96
80	2388,00	2048,88	85,80
	2370,00	2022,55	85,34
	2288,00	1956,26	85,50
	Promedio		85,55
	RSD (%)		0,27

3.3.6 Robustez**3.3.6.1 Variación del lote de columna**

El lote de columna fue modificado, y su influencia fue evaluada en el tiempo de retención y resolución cuando se compara con las condiciones del método original.

Variación del lote de columna	Número de serie: NF-15839 Número interno: GC10/15 (condiciones del método)		Número de serie: NF-38228 Número interno: GC15/16	
	Tr (min)	Rel. Resol.	Tr (min)	Rel. Resol.
2-Propanol	2,54	2,94	3,32	3,19
Comentario			No crítico. Ligero aumento del tiempo de retención y resolución.	

3.3.6.2 Variación de caudal del gas portador

El caudal del gas portador fue modificado en el rango de 4,20 mL/min a 2,80 mL/min (3,50 mL/min $\pm$ 20%) y su influencia fue evaluada en el tiempo de retención y resolución cuando se compara con las condiciones del método original.

3.2.P.5.3 Validación de procedimientos analíticos (Ketosteril, tabletas recubiertas)

Variación del caudal de gas portador	2,80 mL/min		3,50 mL/min (condiciones del método)		4,20 mL/min	
	Tr (min)	Rel. Resol.	Tr (min)	Rel. Resol.	Tr (min)	Rel. Resol.
2-Propanol	2,99	3,15	2,54	2,94	2,24	2,80
Comentario	No crítico. Ligero aumento del tiempo de retención y resolución.		-----		No crítico. Ligero aumento del tiempo de retención y resolución, cumpliendo los criterios de resolución	

3.3.6.3 Variación de temperatura del inyector

La temperatura del inyector fue modificada en el rango de 126°C a 154°C (140°C $\pm$ 10%) y su influencia fue evaluada en el tiempo de retención y resolución cuando se compara con las condiciones del método original.

Variación de la temperatura del inyector	126°C		140°C (condiciones del método)		154°C	
	Tr (min)	Rel. Resol.	Tr (min)	Rel. Resol.	Tr (min)	Rel. Resol.
2-Propanol	2,54	2,95	2,54	2,94	2,54	2,95
Comentario	No crítico. No se observó aumento del tiempo de retención y resolución.		-----		No crítico. No se observó aumento del tiempo de retención y resolución.	

3.3.6.4 Variación de la temperatura del detector

La temperatura del detector fue modificada en el rango de 180°C a 220°C (200 $\pm$ 10%) y su influencia fue evaluada en el tiempo de retención y resolución cuando se compara con las condiciones del método original.

3.2.P.5.3 Validación de procedimientos analíticos (Ketosteril, tabletas recubiertas)

Variación de la temperatura del detector	180°C		200°C (condiciones del método)		220°C	
	Tr (min)	Rel. Resol.	Tr (min)	Rel. Resol.	Tr (min)	Rel. Resol.
2-Propanol	2,54	2,95	2,54	2,94	2,54	2,95
Comentario	No crítico. No se observó aumento del tiempo de retención y resolución.		-----		No crítico. No se observó aumento del tiempo de retención y resolución.	

3.3.6.5 Variación de la temperatura del recipiente

La temperatura del recipiente fue modificada en el rango de 81°C a 99°C (90°C $\pm$ 10%) y su influencia fue evaluada en el tiempo de retención y resolución cuando se compara con las condiciones del método original.

Variación de la temperatura del vial	81°C		90°C (condiciones del método)		99°C	
	Tr (min)	Rel. Resol.	Tr (min)	Rel. Resol.	Tr (min)	Rel. Resol.
2-Propanol	2,54	2,95	2,54	2,94	2,54	2,95
Comentario	No crítico. No se observó aumento del tiempo de retención y resolución.		-----		No crítico. No se observó aumento del tiempo de retención y resolución.	

3.4 Análisis de Resultados**3.4.1 Determinación de 2-Propanol**

El método es selectivo y lineal en el rango de concentración de 187 a 2799 ppm.

El DL y QL calculado utilizando la regresión lineal es respectivamente 93.39 ppm y 282.99 ppm, sin embargo los límites de detección y cuantificación considerados corresponden a la concentración más baja probada con RSD entre 3 inyecciones menor a 10.0% (192.89 ppm).

El porcentaje de recupero medio obtenido en la prueba de exactitud es 91.4%, 86.0%, 89.7% y 85.6%, para el nivel 10, 80, 100 y 120% respectivamente.

Con respecto a la prueba de precisión intermedia, la media y RSD entre los resultados de los dos análisis son respectivamente 900.6 ppm y 7.6%.

3.2.P.5.3 Validación de procedimientos analíticos (Ketosteril, tabletas recubiertas)

3.4.2 Robustez

Las variaciones probadas en el lote de la columna, flujo del gas portador, temperatura de inyector, temperatura del detector y temperatura del recipiente demuestran que no son críticos cuando se comparan con las condiciones del método, probando la robustez del método.

3.4.3 Conclusión

El método es selectivo, lineal, preciso, exacto y robusto, por lo tanto válido para realizar la determinación cuantitativa de 2-Propanol en Ketosteril tabletas.