UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA
SEDE VIÑA DEL MAR - JOSÉ MIGUEL CARRERA

VALORACIÓN DE DL ALFA TOCOFEROL EN EMULSIÓN PARENTERAL POR TÉCNICA DE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA (HPLC)

Trabajo de Titulación para optar al Título Profesional de Técnico Universitario en QUÍMICA MENCIÓN QUÍMICA ANALÍTICA

Alumno:
Srta. Montserrat Rodríguez Arias

Profesor Guía:
Sr. Miguel Zazopulos Garay

2025

CONSTANCIA DE VALIDACIÓN Y CONFIDENCIALIDAD DE MONOGRAFÍA A REPOSITORIO ACADÉMICO

1.- IDENTIFICACIÓN DEL TRABAJO ACADÉMICO

Tipo de monografía (marcar una opción): ☒ Memoria o trabajo de título; ☐ Tesis de Postgrado;

Título del trabajo: Valoración de DL Alfa Tocoferol en Emulsión Parenteral por Técnica de Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (HPLC).

Nombre del candidato(a): Montserrat Lissette Rodríguez Arias

Carrera / Grado: Técnico Universitario en Química con mención Química Analítica

Campus: Viña del Mar ; **Departamento**: Química y Medio Ambiente

2.- VALIDACIÓN DEL PROFESOR GUÍA/DIRECTOR DE TESIS

Yo, Miguel Zazopulos Garay, en mi calidad de profesor(a) guía/director(a) del trabajo académico mencionado anteriormente **DEJO CONSTANCIA** que:

- He revisado esta versión del documento y corresponde a la versión final aprobada del trabajo.
- El trabajo cumple con los requisitos académicos y de formato establecidos por la institución

3.- EVALUACIÓN DE CONFIDENCIALIDAD POR PROPIEDAD INDUSTRIAL

☒ El trabajo **NO contiene información que amerite confidencialidad** y puede ser publicado de inmediato en repositorio con acceso abierto.

☐ El trabajo **CONTIENE** información con potenciales implicancias de propiedad industrial o intelectual y requiere un periodo de confidencialidad (embargo) por:

☐ 6 meses; ☐ 12 meses; ☐ 2 años; ☐ 3 años; ☐ 5 años; ☐ 10 años

Fundamentación de la necesidad de confidencialidad (obligatorio si se solicita embargo):

4.- FIRMAS

Profesor(a) guía o director(a) de memoria o tesis:

Fecha: 06/08/2025 ; **Firma:** mzg

Estudiante o Candidato(a):

Fecha:06/08/2025 ; **Firma:**

Este formulario debe ser insertado como página 2 de la memoria o tesis, completado y firmado por estudiante y profesor(a) antes de la entrega en portal PRISMA de Biblioteca USM.

"Un científico debe tomarse la libertad de plantear cualquier cuestión, de dudar de cualquier afirmación, de corregir errores."

Julius Robert Oppenheimer.

AGRADECIMIENTOS

Simplemente nombrar a cada una de las personas que me han ayudado en este lago camino, sería casi un sinfín, mas no quisiera que este espacio no se diera como un agradecimiento. Por lo cual me limitaré a decir, gracias, por tanto, por persistir, ser una guía, un modelo de lo que podría ser algún día, en definitiva, por existir en mi universo.

RESUMEN

Keywords: d,l Alfa Tocoferol, Emulsión parenteral, Nutrición, HPLC.

Se analizaron muestras de formulación de emulsión parenteral para la nutrición parenteral de soporte terapéutico en pacientes clínicos.

La estimación y cuantificación de dl Alfa Tocoferol en una formulación de emulsión parenteral, esta se realizó mediante el empleo de técnica cromatográfica de alta eficacia (HPLC). Utilizando como sistema cromatográfico una columna C18 (3,9 x 150 mm;5 µm), provista con una pre-columna C18 (3,9 x 20 mm;5 µm) a 20°C con un flujo de 2,0 mL/min para la fase móvil (ACN:MeOH:Agua) en proporción 50:50:2 y un volumen de inyección igual a 20 µL.
Finalmente, los datos obtenidos para a cuantificación de d,1 Alfa Tocoferol en la emulsión parenteral, fueron comparados y analizados estadísticamente resultando en la validación del método no compendial.

Test	Criterio	Resultado
Aptitud del Sistema	Asimetría: 0,8 - 1,1 RDS Áreas: ≤ 2% RDS TR: ≤1%	Asimetría: 1,1 RDS Áreas: 1,8% RDS TR: 0,1%
Selectividad	Sin interferencias	Sin interferencias
Linealidad	Linealidad Método r: ≥ 0,990 r^2: ≥ 0,980 CV%: ≤ 2,0% C: ≤ 0,68 Gráfico Residuos: Sin tendencias	Linealidad Método r: 0,9999 r^2: 0,9997 CV%: 1,15% C: 0,66 Gráfico Residuos: Sin tendencias
	Linealidad Sistema r: ≥ 0,990 r^2: ≥ 0,980 CV%: ≤ 2,0% C: ≤ 0,68 Gráfico Residuos: Sin tendencias	Linealidad Sistema r: 0,9995 r^2: 0,9990 CV%: 1,21% C: 0,43 Gráfico Residuos: Sin tendencias
Precisión	Repetibilidad CV%: ≤ 3,7%	Repetibilidad CV%: 1,16%
	Precisión Sistema CV%: ≤ 1%	Precisión Sistema CV%: 0,1%
	Precisión Intermedia T: ≤ 1,86 CV%: ≤ 3,7%	Precisión Intermedia T: 1,18 CV%: 1,37%
Exactitud	Recobro%: 95 – 105% CV%: ≤ 3,7%	Recobro %: 98% CV%: 0,6%
Robustez	Recobro%: 95 – 105%	Flujo (1,9 mL/min): 103% Flujo (2,1 mL/min): 102% Volumen de inyección (10 µL): 103% Volumen de inyección (30 µL): 101% Temperatura de columna (15°C): 105% Temperatura de columna (35°C): 100%
Límite de Cuantificación	LC: Informativo S/N: ≥10	LC: 48,75 mg/L S/N: 10

ÍNDICE DE MATERIAS

RESUMEN .....
SIGLAS Y ABREVIATURAS .....
INTRODUCCIÓN **1**
OBJETIVOS **3**
CAPÍTULO 1: FUNDAMENTO TEÓRICO **5**
FUNDAMENTO TEÓRICO **7**
1.1. ANTECEDENTES DE LA NUTICIÓN PARENTERAL 7
1.1.1. Indicaciones medicas 7
1.1.2. Vías de administración 7
1.1.2.1. Vía periférica 8
1.1.2.2. Vía central 8
1.1.3. Composición 9
1.1.3.1. Aminoácidos 9
1.1.3.2. Hidratos de carbono 9
1.1.3.3. Lípidos 10
1.1.3.4. Electrolitos 10
1.1.3.5. Vitaminas 10
1.1.3.6. Oligoelementos 10
1.2. ANTECEDENTES DE LA VITAMINA E 10
1.2.1. Composición química del Vitamina E 11
1.2.2. Fuentes naturales de Vitamina E. 12
1.2.3. Actividad biológica 12
1.2.3.1. Actividad Antioxidante: 12
1.2.3.2. Diferenciación celular e inhibición de crecimiento celular: 12
1.2.3.3. Regulación del sistema inmunológico 12
1.2.4. Farmacocinética 13
1.3. TÉCNICAS GENERALES 13
1.3.1. Planteamiento de la técnica 13
1.3.1.1. Preparación de Soluciones 13
1.3.1.1.1. Preparación de la fase móvil 13
1.3.1.1.2. Preparación de la muestra 13
1.3.1.1.3. Preparación del estándar de cuantificación 14
1.3.1.2. Identificación y Cuantificación por cromatografía líquida 14
1.3.1.2.1. Condiciones cromatográficas 14
1.3.1.2.2. Procedimiento de análisis de rutina 14
1.3.1.2.3. Criterios para Aptitud del sistema 14
1.3.1.2.4. Expresión de cálculo 14
1.3.1.2.5. Criterio de aceptación 15
1.3.2. Criterios de evaluación para validar el método 15
1.3.2.1. Selectividad 15
1.3.2.2. Robustez 15
1.3.2.3. Límite de Cuantificación 16
1.3.2.4. Linealidad 16
1.3.2.4.1. Linealidad del Método 16
1.3.2.4.2. Linealidad del Sistema: 16
1.3.2.5. Precisión 17

1.3.2.6. Exactitud 18
CAPÍTULO 2: PARTE EXPERIMENTAL 19
PARTE EXPERIMENTAL 21
2.1. EQUIPOS Y MATERIALES 21
2.1.1. Equipos 21
2.1.2. Materiales 21
2.2. REACTIVOS Y SOLUCIONES 21
2.2.1. Reactivos 21
2.2.2. Soluciones 21
2.3. CONDICIONES CROMATÓGRAFICAS 22
2.4. PROCEDIMIENTO 22
2.4.1 System suitability (Aptitud del Método) 22
2.4.2 Selectividad 22
2.4.3 Robustez 23
2.4.4 Límite de cuantificación 23
2.4.5 Linealidad 24
2.4.5.1 Linealidad del Método 24
2.4.5.2 Linealidad del Sistema 25
2.4.6 Precisión 26
2.4.6.1 Repetibilidad 26
2.4.6.2 Precisión Intermedia 26
2.4.7 Exactitud 27
CAPÍTULO 3: RESULTADOS 29
RESULTADOS 31
3.1 System Suitability (Aptitud del sistema) 31
3.2 Selectividad 32
3.3. Robustez 39
3.4. Linealidad 46
3.4.1 Linealidad del Método 46
3.4.2 Linealidad del Sistema 49
3.5. Limite de cuantificación 52
3.6. Precisión 57
3.6.1 Repetibilidad 57
3.6.2 Precisión del Sistema 60
3.6.3 Precisión Intermedia 61
3.7. Exactitud 65
DISCUSIÓN 73
CONCLUSIONES 75
BIBLIOGRAFÍA 77
ANEXO A: CROMATOGRAMAS SST 79
ANEXO B: CROMATOGRAMAS SELECTIVIDAD 83
ANEXO C: ESPECTROS SELECTIVIDAD 95
ANEXO D: CROMATOGRAMAS ROBUSTEZ 108
ANEXO E: CROMATOGRAMAS LINEALIDAD 122
ANEXO F: CROMATOGRAMAS LIMITE CUANTIFICACIÓN 132
ANEXO G: CROMATOGRAMAS PRECISIÓN 142
ANEXO H: EXACTITUD 160

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1.1. Vía de administración periférica. 8
Figura 1-1.2. Vía de administración Central. 9
Figura 1-1.3. Estructura química de Vitamina E. 11
Figura 3-1.1. Cromatograma System Suitability. 31
Figura 3-1.2. Cromatograma Bracketing - System Suitability. 31
Figura 3-2.1. Cromatograma Blanco Diluyente 33
Figura 3-2.2. Cromatograma Solución Estándar. 34
Figura 3-2.3. Cromatograma Solución Muestra S.E. 34
Figura 3-2.4. Cromatograma de DF - Fotólisis. 34
Figura 3-2.5. Cromatograma de DF - Iones Metálicos. 34
Figura 3-2.6. Cromatograma de DF - Hidrólisis. 35
Figura 3-2.7. Cromatograma de DF - Hidrólisis Básica. 35
Figura 3-2.8. Cromatograma de DF - Hidrólisis Ácida. 35
Figura 3-2.9. Cromatograma de DF - Oxidación. 35
Figura 3-2.10. Espectro Blanco Diluyente. 36
Figura 3-2.11. Espectro Solución Estándar. 36
Figura 3-2.12. Espectro Solución Muestra S.E. 36
Figura 3-2.13. Espectro peaks detectados en DF - Fotolisis. 37
Figura 3-2.14. Espectro peaks detectados en DF - Iones Metálicos. 37
Figura 3-2.15. Espectro peaks detectados en DF- Hidrólisis. 37
Figura 3-2.16. Espectro peaks detectados en DF – Hidrólisis Básica. 37
Figura 3-2.17. Espectro peaks detectados en DF – Hidrólisis Ácida. 38
Figura 3-2.18. Espectro peaks detectados en DF – Oxidación. 38
Figura 3-3.1. Cromatograma Solución MTA 100% sin cambios del Método. 40
Figura 3-3.2. Cromatograma Solución STD 100% sin cambios del Método. 41
Figura 3-3.3. Cromatograma Solución MTA 100% con Flujo 1,9 mL/min. 41
Figura 3-3.4. Cromatograma Solución STD 100% con Flujo 1,9 mL/min. 41
Figura 3-3.5. Cromatograma Solución MTA 100% con Flujo 2,1 mL/min. 42
Figura 3-3.6. Cromatograma Solución STD 100% con Flujo 2,1 mL/min. 42
Figura 3-3.7. Cromatograma Solución MTA 100% con inyección 10 µL. 42
Figura 3-3.8. Cromatograma Solución STD 100% con inyección 10 µL. 43
Figura 3-3.9. Cromatograma Solución MTA 100% con inyección 30 µL. 43
Figura 3-3.10. Cromatograma Solución STD 100% con inyección 30 µL. 43
Figura 3-3.11. Cromatograma Solución MTA 100% con Columna a 15°C. 44
Figura 3-3.12. Cromatograma Solución STD 100% con Columna a 15°C. 44
Figura 3-3.13. Cromatograma Solución MTA 100% con Columna a 35°C. 44
Figura 3-3.14. Cromatograma Solución STD 100% con Columna a 35°C. 45
Figura 3-4.1. Cromatograma Linealidad Método – MTA 50%. 47
Figura 3-4.2. Cromatograma Linealidad Método – MTA 80%. 47
Figura 3-4.3. Cromatograma Linealidad Método – MTA 100%. 48
Figura 3-4.4. Cromatograma Linealidad Método – MTA 120%. 48
Figura 3-4.5. Cromatograma Linealidad Método – MTA 150%. 48
Figura 3-4.6. Cromatograma Linealidad Método – STD 50%. 50
Figura 3-4.7. Cromatograma Linealidad Método – STD 80%. 50
Figura 3-4.8. Cromatograma Linealidad Método – STD 100%. 51

Figura 3-4.9. Cromatograma Linealidad Método – STD 120%. 51
Figura 3-4.10. Cromatograma Linealidad Método – STD 150%. 51
Figura 3-5.1. Cromatograma Curva LC – MTA 15%. 54
Figura 3-5.2. Cromatograma Curva LC – MTA 20%. 54
Figura 3-5.3. Cromatograma Curva LC – MTA 25%. 54
Figura 3-5.4. Cromatograma Curva LC – MTA 35%. 54
Figura 3-5.5. Cromatograma Curva LC – MTA 50%. 55
Figura 3-5.6. Cromatograma Curva LC – MTA 80%. 55
Figura 3-5.7. Cromatograma Curva LC – MTA 100%. 55
Figura 3-5.8. Cromatograma Curva LC – MTA 120%. 56
Figura 3-5.9. Cromatograma Curva LC – MTA 150%. 56
Figura 3-5.10. Cromatograma de comprobación LC – MTA 25%. 56
Figura 3-6.1. Cromatograma Repetibilidad – MTA (1) 50%. 58
Figura 3-6.2. Cromatograma Repetibilidad – MTA (2) 50%. 58
Figura 3-6.3. Cromatograma Repetibilidad – MTA (3) 50%. 58
Figura 3-6.4. Cromatograma Repetibilidad – MTA (1) 100%. 58
Figura 3-6.5. Cromatograma Repetibilidad – MTA (2) 100%. 59
Figura 3-6.6. Cromatograma Repetibilidad – MTA (3) 100%. 59
Figura 3-6.7. Cromatograma Repetibilidad – MTA (1) 150%. 59
Figura 3-6.8. Cromatograma Repetibilidad – MTA (2) 150%. 59
Figura 3-6.9. Cromatograma Repetibilidad – MTA (3) 150%. 60
Figura 3-6.10. Cromatograma PI (A2D1) - 50%. 62
Figura 3-6.11. Cromatograma PI (A2D1) - 100%. 62
Figura 3-6.12. Cromatograma PI (A2D1) - 150%. 62
Figura 3-6.13. Cromatograma PI (A1D2) - 50%. 62
Figura 3-6.14. Cromatograma PI (A1D2) - 100%. 63
Figura 3-6.15. Cromatograma PI (A1D2) - 150%. 63
Figura 3-6.16. Cromatograma PI (A2D2) - 50%. 63
Figura 3-6.17. Cromatograma PI (A2D2) - 100%. 64
Figura 3-6.18. Cromatograma PI (A2D2) - 150%. 64
Figura 3-7.1. Cromatograma Exactitud MTA (1) - 100%. 67
Figura 3-7.2. Cromatograma Exactitud MTA (2) - 100%. 67
Figura 3-7.3. Cromatograma Exactitud MTA (3) - 100%. 67
Figura 3-7.4. Cromatograma Exactitud MTA (1) - 120%. 68
Figura 3-7.5. Cromatograma Exactitud MTA (2) - 120%. 68
Figura 3-7.6. Cromatograma Exactitud MTA (3) - 120%. 68
Figura 3-7.7. Cromatograma Exactitud MTA (1) - 150%. 69
Figura 3-7.8. Cromatograma Exactitud MTA (2) - 150%. 69
Figura 3-7.9. Cromatograma Exactitud MTA (3) - 150%. 69
Figura 3-7.10. Cromatograma Exactitud STD (1) - 100%. 70
Figura 3-7.11. Cromatograma Exactitud STD (2) - 100%. 70
Figura 3-7.12. Cromatograma Exactitud STD (3) - 100%. 70
Figura 3-7.13. Cromatograma Exactitud STD (4) - 100%. 71
Figura 3-7.14. Cromatograma Exactitud STD (5) - 100%. 71
Figura A.1. Blanco Diluyente - EtOH. 79
Figura A.2. Blanco Diluyente – THF c/ EtOH. 80
Figura A.3. System Suitability. 81

Figura A.4. System Suitability - cierre. 82
Figura B.1. Selectividad - Blanco. 83
Figura B.2. Selectividad Blanco – Hidrólisis Ácida. 84
Figura B.3. Selectividad Blanco – Hidrólisis Básica. 85
Figura B.4. Selectividad Blanco – Iones Metálicos. 86
Figura B.5. Selectividad Blanco – Oxidación. 87
Figura B.6. Selectividad Muestra sin tratamiento. 88
Figura B.7. Selectividad Estándar sin tratamiento. 89
Figura B.8. Selectividad - Fotólisis. 90
Figura B.9. Selectividad - Hidrólisis. 91
Figura B.10. Selectividad – Hidrólisis Ácida. 92
Figura B.11. Selectividad – Hidrólisis Básica. 93
Figura B.9. Selectividad – Iones Metálicos. 94
Figura C.1. Espectro - Blanco. 95
Figura C.2. Espectro - Blanco Hidrólisis Ácida. 96
Figura C.3. Espectro - Blanco Hidrólisis Básica. 97
Figura C.4. Espectro - Blanco Iones Metálicos. 98
Figura C.5. Espectro - Blanco Oxidación. 99
Figura C.2. Espectro – Muestra sin tratamiento. 100
Figura C.2. Espectro – Estándar sin tratamiento. 101
Figura C.8. Espectro - Fotólisis. 102
Figura C.9. Espectro - Hidrólisis. 103
Figura C.10. Espectro - Hidrólisis Ácida. 104
Figura C.11. Espectro - Hidrólisis Básica. 105
Figura C.12. Espectro – Iones Metálicos. 106
Figura C.13. Espectro – Oxidación. 107
Figura D.1. Robustez – MTA 100%. 108
Figura D.2. Robustez – STD 100%. 109
Figura D.3. Robustez – MTA a Flujo 1,9 mL/min. 110
Figura D.4. Robustez – STD a Flujo 1,9 mL/min. 111
Figura D.5. Robustez – MTA a Flujo 2,1 mL/min. 112
Figura D.6. Robustez – STD a Flujo 2,1 mL/min. 113
Figura D.6. Robustez – MTA con inyección 10µL. 114
Figura D.8. Robustez – STD con inyección 10µL. 115
Figura D.9. Robustez – MTA con inyección 30µL. 116
Figura D.10. Robustez – STD con inyección 30µL. 117
Figura D.10. Robustez – MTA con temperature columna 15°C. 118
Figura D.12. Robustez – STD con temperature columna 15°C. 119
Figura D.13. Robustez – MTA con temperature columna 35°C. 120
Figura D.14. Robustez – STD con temperature columna 35°C. 121
Figura E.1. Linealidad Método – MTA 50%. 122
Figura E.2. Linealidad Método – MTA 80%. 123
Figura E.3. Linealidad Método – MTA 100%. 124
Figura E.4. Linealidad Método – MTA 120%. 125
Figura E.5. Linealidad Método – MTA 150%. 126
Figura E.6. Linealidad Sistema – STD 50%. 127
Figura E.7. Linealidad Sistema – STD 80%. 128

Figura E.8. Linealidad Sistema – STD 100%. 129
Figura E.9. Linealidad Sistema – STD 120%. 130
Figura E.10. Linealidad Sistema – STD 150%. 131
Figura F.1. Límite de Cuantificación – MTA 15%. 132
Figura F.2. Límite de Cuantificación – MTA 20%. 133
Figura F.3. Límite de Cuantificación – MTA 25%. 134
Figura F.4. Límite de Cuantificación – MTA 35%. 135
Figura F.5. Límite de Cuantificación – MTA 50%. 136
Figura F.6. Límite de Cuantificación – MTA 80%. 137
Figura F.7. Límite de Cuantificación – MTA 100%. 138
Figura F.8. Límite de Cuantificación – MTA 120%. 139
Figura F.9. Límite de Cuantificación – MTA 150%. 140
Figura F.10. Confirmación Límite de Cuantificación – MTA 25%. 141
Figura G.1. Repetibilidad – MTA 50%-1. 142
Figura G.2. Repetibilidad – MTA 50%-2. 143
Figura G.3. Repetibilidad – MTA 50%-3. 144
Figura G.4. Repetibilidad – MTA 100%-1. 145
Figura G.5. Repetibilidad – MTA 100%-2. 146
Figura G.6. Repetibilidad – MTA 100%-3. 147
Figura G.7. Repetibilidad – MTA 150%-1. 148
Figura G.8. Repetibilidad – MTA 150%-2. 149
Figura G.9. Repetibilidad – MTA 150%-3. 150
Figura G.10. Precisión Intermedia – A2D1 MTA 50%. 151
Figura G.11. Precisión Intermedia – A2D1 MTA 100%. 152
Figura G.12. Precisión Intermedia – A2D1 MTA 150%. 153
Figura G.13. Precisión Intermedia – A2D2 MTA 50%. 154
Figura G.14. Precisión Intermedia – A2D2 MTA 100%. 155
Figura G.15. Precisión Intermedia – A2D2 MTA 150%. 156
Figura G.16. Precisión Intermedia – A1D2 MTA 50%. 157
Figura G.17. Precisión Intermedia – A1D2 MTA 100%. 158
Figura G.18. Precisión Intermedia – A1D2 MTA 150%. 159
Figura H.1. Exactitud – MTA 100%-1. 160
Figura H.2. Exactitud – MTA 100%-2. 161
Figura H.3. Exactitud – MTA 100%-3. 162
Figura H.4. Exactitud – MTA 120%-1. 163
Figura H.5. Exactitud – MTA 120%-2. 164
Figura H.6. Exactitud – MTA 120%-3. 165
Figura H.7. Exactitud – MTA 150%-1. 166
Figura H.8. Exactitud – MTA 150%-2. 167
Figura H.9. Exactitud – MTA 150%-3. 168
Figura H.10. Exactitud – STD 1. 169
Figura H.11. Exactitud – STD 2. 170
Figura H.12. Exactitud – STD 3. 171
Figura H.13. Exactitud – STD 4. 172
Figura H.14. Exactitud – STD 5. 173

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 3-1.1. Criterios de aceptación para System Suitability 31
Tabla 3-2.1. Tiempos de Retención (TR) para los peaks detectados..... 32
Tabla 3-2.2. Áreas para los peaks detectados..... 32
Tabla 3-2.3. Señal/Ruido de los peaks detectados..... 33
Tabla 3-3.1. Desviaciones del método y efecto sobre el recobro. 39
Tabla 3-3.2. Desviaciones del método y efecto sobre la cromatografía..... 40
Tabla 3-4.1. Resultados Linealidad del Método. 46
Tabla 3-4.2. Resultados Linealidad del Sistema. 49
Tabla 3-5.1. Límite de cuantificación para α-Tocoferol. 52
Tabla 3-5.2. Comprobación del Límite de Cuantificación. 53
Tabla 3-6.1. Resultados Repetibilidad. 57
Tabla 3-6.2. Resultados Precisión del sistema..... 60
Tabla 3-6.3. Resultados Precisión Intermedia. 61
Tabla 3-7.1. Respuestas de la Exactitud. 65
Tabla 3-7.2. Resultados Exactitud. 66

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 3-2.1. Tipos de Degradación V/S Porcentaje de degradación. 33
Gráfico 3-4.1. Área V/S Concentración dl α-Tocoferol. 46
Gráfico 3-4.2. Residuos de Linealidad del Método..... 47
Gráfico 3-4.3. Áreas V/S Concentración α-Tocoferol. 49
Gráfico 3-4.4. Residuos de Linealidad del Sistema. 50
Gráfico 3-5.1. Áreas V/S Concentración α-Tocoferol. 53

SIGLAS Y ABREVIATURAS

ACN	:	Acetonitrilo grado HPLC.
A1D2	:	Analista 1, día de análisis 2.
A2D1	:	Analista 1, día de análisis 1.
A2D2	:	Analista 2, día de análisis 2.
C.V.	:	Coeficiente de variación.
DF	:	Degradación Forzada.
EtOH	:	Etanol Absoluto para análisis.
FDA	:	Food and Drug Administration.
LC	:	Límite de cuantificación.
LM	:	Linealidad del Método.
LS	:	Linealidad del Sistema.
MeOH	:	Metanol grado HPLC.
MTA	:	Solución Muestra.
NP	:	Nutrición Parenteral.
PI	:	Precisión Intermedia.
RDS	:	Desviación estándar relativa.
RRT	:	Tiempo de retención relativo.
S.E.	:	Sin Estrés.
S/N	:	Señal – Ruido.
STD	:	Solución Estándar.
THF	:	Tetrahidrofurano grado HPLC.
TR	:	Tiempo de retención.
UV-DAD	:	Detector UV con arreglo de diodos.

INTRODUCCIÓN

A lo largo del desarrollo de la medicina moderna, uno de los problemas que deterioraba significativamente el estado de salud de los pacientes, era el impedimento de alimentarse durante un periodo de tiempo, complejizando los tratamientos curativos. Debido a esto, en la década de 1960 la nutrición parenteral fue desarrollada por el Dr. Stanley Dudrick, quien fue pionero en la investigación de la alimentación asistida, inicialmente en animales y luego en pacientes con enfermedades de condición terminal, teniendo como resultado la mejoría de estos pacientes.

Ya en la actualidad la nutrición parenteral (NP) consiste en la administración de nutrientes por vía endovenosa a pacientes que no pueden utilizar la vía digestiva para alimentarse, por la imposibilidad de utilizar el tracto gastrointestinal. Estos nutrientes se componen de glucosa, aminoácidos, lípidos, vitaminas, electrolitos y minerales, para completar una nutrición deseable.

Uno de los nutrientes esenciales dentro de la dieta es la vitamina E, cuya forma sintética es el DL Alfa Tocoferol, conocido por sus múltiples beneficios para la salud. Algunas de las consecuencias de la deficiencia de esta vitamina es la anemia hemolítica, neuropatías periféricas y degradación neuronal. Por aquello, es de interés la cuantificación de esta vitamina en los preparados de nutrición parenteral.

El objetivo de este trabajo es validar un método no compendial para la identificación y cuantificación de DL Alfa Tocoferol en una matriz de emulsión parenteral.

OBJETIVOS

GENERALES

La validación de método no compendial para la valoración de DL Alfa Tocoferol en Emulsión Parenteral.

ESPECÍFICOS

- Obtener datos de estimación para la respuesta del analito de interés mediante el método desafiado.
- Analizar y comparar estadísticamente los datos obtenidos mediante el método desafiado.
- Obtener un rango analítico de medición para el analito de interés.

CAPÍTULO 1: FUNDAMENTO TEÓRICO

FUNDAMENTO TEÓRICO

1.1. ANTECEDENTES DE LA NUTICIÓN PARENTERAL

La nutrición parenteral es la técnica de alimentación que permite aportar nutrientes directamente al torrente circulatorio, en pacientes que son incapaces de alcanzar los requerimientos nutricionales por vía enteral, o en los cuales no se puede utilizar con seguridad el tracto gastrointestinal.

Las primeras infusiones de nutrientes por vía intravenosa datan de la década de 1930. Desde entonces, la investigación y la comercialización de nuevos productos, la centralización de la elaboración de las unidades nutrientes en los servicios de farmacia de los hospitales o en las empresas farmacéuticas, y la especialización de los profesionales en este campo han mejorado considerablemente su perfil de seguridad.

La nutrición parenteral aporta simultáneamente macronutrientes (aminoácidos, hidratos de carbono y lípidos), que constituyen el aporte calórico y proteico, y micronutrientes (electrólitos, vitaminas y oligoelementos), que complementan la dieta, evitando el desarrollo de déficit. [1]

1.1.1. Indicaciones medicas

La nutrición parenteral está indicada en pacientes que no pueden alcanzar los requerimientos nutricionales por vía oral o enteral, bien porque su aparato digestivo no es capaz de realizar una digestión y absorción de nutrientes con normalidad, bien porque es necesario mantener el tubo digestivo en reposo. La vía enteral es siempre la vía de elección, por ser más fisiológica, mantener la integridad de la mucosa intestinal, tener menor riesgo de infecciones y suponer menor coste. La nutrición parenteral está indicada cuando la vía enteral no se pueda usar de una forma segura. Cuando la tolerancia por vía enteral es limitada o las necesidades nutricionales del paciente son elevadas se puede utilizar una nutrición mixta: nutrición parenteral y nutrición enteral simultáneamente. [1]

1.1.2. Vías de administración

Aunque los términos nutrición parenteral “total” y “central”, al igual que nutrición parenteral “parcial” y “periférica”, se usan indistintamente, la terminología se refiere a la cantidad de nutrientes administrados y al acceso vascular utilizado, respectivamente. Así, la nutrición parenteral total identifica a aquella solución que es capaz de cubrir los requerimientos nutricionales del paciente, con independencia de que se administre a través de una vía venosa central o periféco. [1]

1.1.2.1. Vía periférica

En este tipo de vía, los nutrientes se infunden al torrente circulatorio a través de una vía periférica, generalmente colocada en un miembro superior. La osmolaridad final de la solución, para ser administrada por esta vía, debe ser inferior a 900 mOsm/L. Si la osmolaridad de la solución supera este valor, se pueden producir complicaciones locales como flebitis y trombosis. [1]

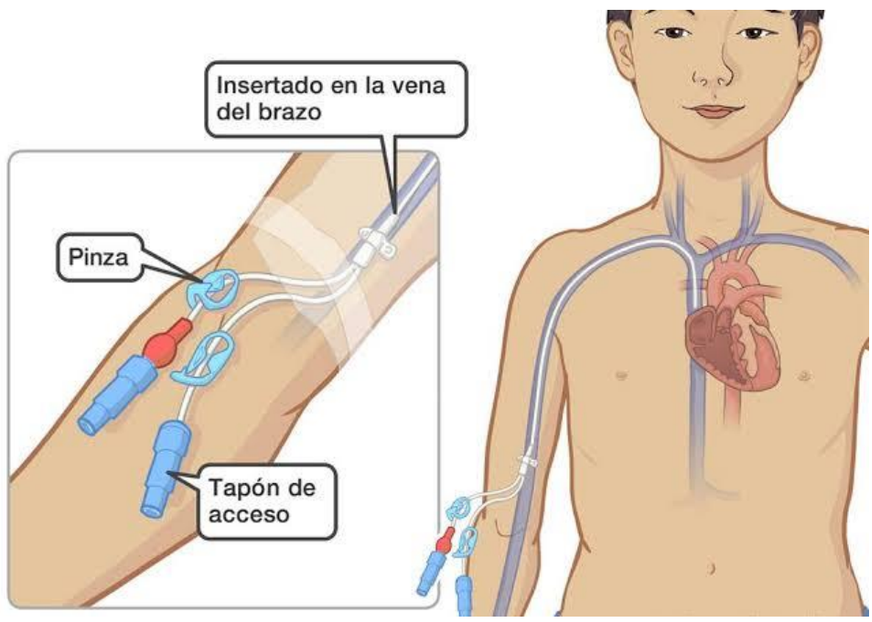


Figura 1-1.1. Vía de administración periférica.

1.1.2.2. Vía central

En este caso, la solución se administra directamente a una vía central de alto flujo. Para ello, se puede utilizar un catéter de corta duración, introducido en vena cava superior directamente a través de vena yugular interna o subclavia o a través de un catéter epicutáneo insertado periféricamente por vena cefálica o basílica, o por vía femoral, mediante un catéter colocado en vena femoral.

Al acceder a venas de alto flujo se permite aportar soluciones de macronutrientes y micronutrientes de alta osmolaridad, que cubren la totalidad de las necesidades nutricionales del paciente, y esto permite reducir los aportes de volumen de la solución. [1]

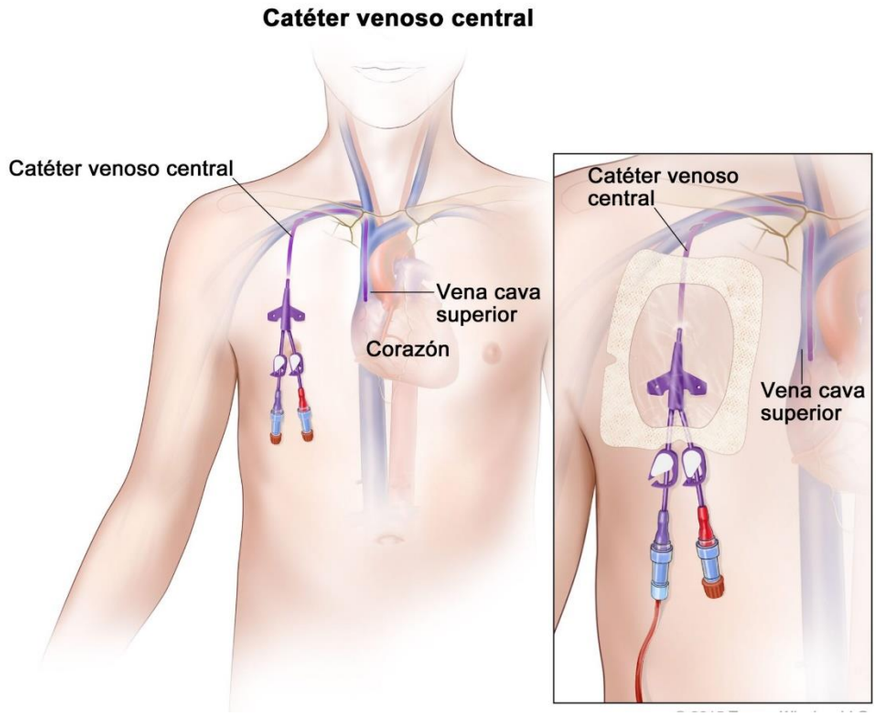


Figura 1-1.2. Vía de administración Central.

1.1.3. Composición

1.1.3.1. Aminoácidos

Las proteínas son uno de los constituyentes básicos del organismo. Soportan la estructura celular, son parte fundamental de los sistemas enzimáticos, participan en sistemas de transporte, en el mantenimiento del equilibrio ácido-base y pueden ser sustratos gluconeogénicos. Como fuente proteica en nutrición parenteral se utilizan las soluciones estériles de aminoácidos libres en su forma levo. Algunos aminoácidos como la tirosina o la cisteína se aportan en forma de sus precursores: la N-acetil-L-tirosina y la N-acetil-L-cisteína, respectivamente, para aumentar su solubilidad en agua o disminuir su oxidación. En otros casos, como glutamina y tirosina, se pueden administrar en forma de dipéptidos, para mejorar su estabilidad y solubilidad. [1]

1.1.3.2. Hidratos de carbono

Los hidratos de carbono son la fuente de energía más rápidamente disponible del organismo. El glucógeno, polisacárido de reserva, se encuentra almacenado en el hígado y en el músculo esquelético. Además, los hidratos de carbono forman parte de elementos estructurales como membranas celulares. Los hidratos de carbono se consideran nutrientes no esenciales porque se pueden sintetizar a partir de proteínas y de grasa. Sin embargo, algunas células como las neuronas y los hematíes dependen de la glucosa como fuente de energía. [1]

1.1.3.3. Lípidos

Para la formulación de las emulsiones lipídicas se intenta simular la forma en que los lípidos de la dieta llegan al torrente circulatorio desde el intestino. Las gotas lipídicas en estas emulsiones tienen un tamaño similar al de los quilomicrones. Sin embargo, se diferencian en su composición: contienen más fosfolípidos, menos colesterol, un patrón distinto de ácidos grasos y no contienen apoproteínas. Para la estabilización de la emulsión se utilizan emulgentes, como la lecitina de huevo, isotonizantes, como el glicerol, y estabilizantes como el oleato sódico. [1]

1.1.3.4. Electrolitos

Los requerimientos basales de electrólitos por vía parenteral en adultos son 1-2 mEq/kg/día de sodio y potasio, 10-15 mEq/día de calcio, 8-20 mEq/día de magnesio, 20-40 mmol/día de fosfato y las cantidades de cloro y acetato necesarias para mantener el equilibrio ácido-base. [1]

1.1.3.5. Vitaminas

Las vitaminas son compuestos esenciales, ya que el organismo humano es incapaz de sintetizarlas. Sirven de cofactores enzimáticos de una gran variedad de procesos químicos. Su déficit da lugar a diversas manifestaciones clínicas.
Las vitaminas se dividen en hidrosolubles y liposolubles. Dentro de las hidrosolubles se incluyen las vitaminas del grupo B, vitamina C, ácido fólico y biotina. Dentro de las vitaminas liposolubles se incluyen las vitaminas A, D, E y K. [1]

1.1.3.6. Oligoelementos

Los oligoelementos o elementos trazas son micronutrientes que se encuentran en el organismo en muy pequeñas cantidades. Se consideran oligoelementos esenciales los siguientes: cobre (Cu), cobalto (Co), cromo (Cr), hierro (Fe), yodo (I), manganeso (Mn), molibdeno (Mo), níquel (Ni), selenio (Se) y cinc (Zn). Realizan funciones fisiológicas muy importantes, ya que son cofactores de numerosas enzimas. Su carencia puede inducir anormalidades funcionales y estructurales, que se resuelven con la adición del elemento deficitario. [1]

1.2. ANTECEDENTES DE LA VITAMINA E

La vitamina E fue descubierta en 1922 por los doctores estadounidenses Herbert McLean Evans y Katharine Julia Scott Bishop desde la Escuela de Medicina de la Universidad de California. Evans, era profesor de anatomía y Katharine una recién graduada de la Johns Hopkins University School of Medicine, que se trasladó a Berkeley para enseñar histología en el departamento de anatomía de esa universidad.

Juntos, publicaron una monografía sobre la tinción vital de las células del tejido conectivo. Evans también investigaba problemas relacionados con la nutrición humana, endocrinología, embriología e histología.
El descubrimiento de la vitamina E se produjo como resultado del estudio del ciclo reproductivo de las ratas. Después de establecer una dieta estándar para que las ratas mantuvieran su ciclo reproductivo regular, Bishop y Evans comenzaron a experimentar con deficiencias en la dieta [2][3].

Debido a que la actividad de la vitamina se identificó por primera vez como un factor de fertilidad en la dieta (en ratas), se le dio el nombre de «tocoferol» de las palabras griegas «τόκος» (nacimiento), y «φέρειν», (phérein, que significa, llevar o cargar) con el final «-ol» que significa su estado como alcohol químico [2][3].

1.2.1. Composición química del Vitamina E

El tocoferol existe en cuatro formas diferentes designadas como α, β, δ y γ. Presentan fuertes actividades antioxidantes, y se determina que es la forma principal de vitamina E. El tocoferol, como grupo, está compuesto por compuestos fenólicos solubles que consisten en un anillo de chromanol y una cadena de fitilo de 16 carbonos. La clasificación de las moléculas de tocoferol se designa en función del número y la posición del sustituyente metilo en el anillo de cromol. Los diferentes tipos de tocoferol pueden presentarse trimetilados, dimetilados o metilados en las posiciones 5-, 7- y 8-. Cuando los carbonos en las posiciones 5 y 7 no están metilados, pueden funcionar como centros electrófilos que pueden atrapar especies reactivas de oxígeno y nitrógeno. Los tocoferoles se pueden encontrar en la dieta como parte de aceites vegetales como el maíz, la soja, el sésamo y la semilla de algodón. Actualmente se encuentra en la lista de sustancias generalmente reconocidas como seguras (GRAS) en la FDA para el uso humano [4] [5].

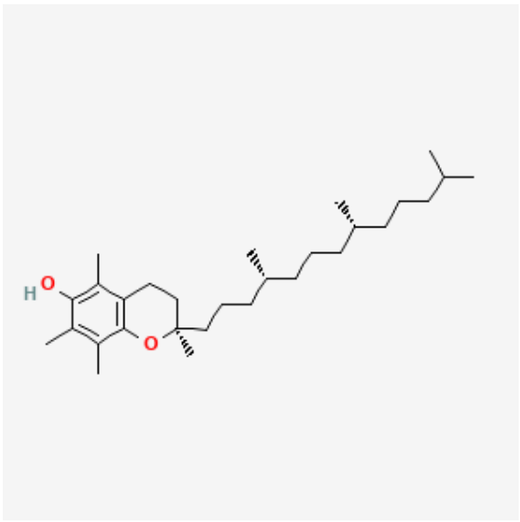


Figura 1-1.3. Estructura química de Vitamina E.

1.2.2. Fuentes naturales de Vitamina E.

La vitamina E se encuentra naturalmente presente en los alimentos. Para obtener las cantidades recomendadas de vitamina E, hay que consumir alimentos variados, como los siguientes:

- Los aceites vegetales, por ejemplo, los aceites de germen de trigo, girasol y cártamo se encuentran entre las fuentes más ricas de vitamina E. Los aceites de maíz y soja también aportan vitamina E.
- Los frutos secos (como maníes, avellanas y, en especial, almendras) y las semillas (como las semillas de girasol) también se encuentran entre las mejores fuentes de vitamina E.
- Las hortalizas de hojas verdes, como la espinaca y el brócoli, contienen vitamina E.

1.2.3. Actividad biológica

1.2.3.1. Actividad Antioxidante:

Es la función más importante que se le atribuye a esta Vitamina, hay observaciones que sugieren que las toxinas del medio ambiente, el envejecimiento y la carcinogénesis, entre otros, son eventos mediados por los radicales libres. Asimismo, se ha demostrado que los fosfolípidos de las membranas celulares y subcelulares poseen un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados que son susceptibles de per oxidarse y originar radicales con capacidad oxidativa [6].

La Vitamina E es un antioxidante liposoluble, capaz de proteger a estas membranas, así entonces, el α-tocoferol actuaría como un barredor de radicales libres, interrumpiendo la formación de estos, los cuales pueden causar daño a la membrana de las organélas subcelulares [6]

1.2.3.2. Diferenciación celular e inhibición de crecimiento celular:

Más allá de su función antioxidante, la vitamina E ha sido involucrada en la inhibición del crecimiento de células tumorales en humanos y ratas, que incluyen la Leucemia Promielocítica humana, neuroblastoma murino y humano, glioma en ratas, melanoma murino y humano, carcinoma de parótidas humanas y carcinoma mamario en humano [7][8].

1.2.3.3. Regulación del sistema inmunológico

La vitamina E ayuda en la regulación de la agregabilidad plaquetaria y modulación del sistema inmunológico, esta función se lleva a cabo a través de las prostaglandinas y leucotrienos, así mismo, se le atribuye un papel esencial en la función neurológica [9].

1.2.4. Farmacocinética

La absorción de los tocoferoles depende de los mismos factores de los cuales dependen la absorción de los lípidos a nivel intestinal, se asume que 50-70% de la Vitamina de la dieta se absorbe en el intestino delgado, requiriendo la presencia de las sales biliares y de las enzimas pancreáticas. La Vitamina E es absorbida por un mecanismo de difusión pasiva no saturable y luego es incorporada a los Quilomicrones (Qm). La Vitamina E en el plasma es transportada principalmente por las LDL y HDL.

Un aumento en los ácidos grasos poliinsaturados y coadministración con sales de hierro pueden disminuir la absorción de Vitamina E. Por otra parte, el aceite mineral y fármacos como Colestiramina y Colestipol disminuyen la absorción y efectos de la Vitamina E, mientras que la Vitamina C cuando se asocia con la E, potencia el efecto de esta porque la primera restaura al radical tocoferol.

Su principal órgano de depósito es el hígado, de donde se moviliza rápidamente, depositándose también en tejido adiposo y músculo con recambio lento.

Se metaboliza a través de oxidación y formación de tocoferil-quinonas e hidroquinonas entre otros, se elimina por heces y orina, en mayor proporción por heces en forma de glucuronidos, sulfatos o como Vitamina E no absorbida.

Una consideración que hay que tener presente, es que hay un alto número de personas que sé automedican altas dosis diarias de Vitamina E, para conseguir los posibles efectos beneficiosos de esta, y si bien es cierto que, hasta el presente, no hay evidencias de toxicidad cuando se usa en el rango de 100-800mg/diarios, debe tenerse presente que los niveles antioxidantes pueden lograrse con aproximadamente 40 a 60 mg diarios y que esto varia de persona a persona [9].

1.3. TÉCNICAS GENERALES

1.3.1. Planteamiento de la técnica

1.3.1.1. Preparación de Soluciones

1.3.1.1.1. Preparación de la fase móvil

Mezclar 50 partes de MeOH con 50 partes de ACN y 2 partes agua, homogeneizar correctamente y someter a sonicado por 15 min para desgasificar la solución.

1.3.1.1.2. Preparación de la muestra

Tomar una alícuota de 1 mL de la muestra, transferir cuantitativamente a un matraz volumétrico de 20 mL, agregar 3 mL de THF, mezclar suavemente para luego diluir y llevar a volumen con EtOH absoluto.

1.3.1.1.3. Preparación del estándar de cuantificación

Masar 100 mg de estándar dl alfa tocoferol, transferir cuantitativamente a un matraz volumétrico de 100 mL, disolver y llevar a volumen con EtOH absoluto. De la solución anterior, tomar una alícuota de 5 mL, transferir cuantitativamente a un matraz volumétrico de 50 mL, diluir y llevar a volumen con el mismo diluyente. Finalmente, de la solución anterior, tomar una alícuota de 1 mL, transferir cuantitativamente a un matraz volumétrico de 10 mL, diluir y llevar a volumen con EtOH absoluto.

1.3.1.2. Identificación y Cuantificación por cromatografía líquida

1.3.1.2.1. Condiciones cromatográficas

Detector	: UV – DAD 290 nm.
Columna	: C18, 5 µm, 3,9 x 150 mm
Pre-Columna	: C18, 5 µm, 3,9 x 20 mm
Temperatura Columna	: 25°C ± 5°C
Temperatura Autosampler	: 20°C ± 5°C
Velocidad de la fase móvil	: 2,0 mL/ minuto.
Tiempo de análisis	: 10 minutos.
Volumen Inyección	: 20 µL

1.3.1.2.2. Procedimiento de análisis de rutina

Inyectar al cromatógrafo la siguiente secuencia analítica:

(1) 20µL Blanco diluyente
(6) 20µL Estándar
(3) 20µL Muestra
(2) 20µL Estándar (cierre de secuencia)

1.3.1.2.3. Criterios para Aptitud del sistema

De la replicas inyectadas del estándar observar que para las áreas el RSD sea ≤ 2% y la simetría esté entre 0,8 – 1,5. Para los tiempos de retención, comprobar que el RSD sea ≤ 1%.

1.3.1.2.4. Expresión de cálculo

La concentración de la muestra expresada en mg/L, se calcula con la siguiente fórmula:

$$Alfa\ Tocoferol_{(mg/L)} = \left(\frac{A_{mta}}{A_{std}}\right) \times \left(\frac{W_{std}}{Aforo}\right) \times \left(\frac{Al_{std}}{Aforo}\right) \times \left(\frac{Al_{std}}{Aforo}\right) \times \left(\frac{Pt_{std}}{100}\right) \times \left(\frac{Aforo}{Al_{mta}}\right) \times 1000$$

Donde:

A_{mta} : Área obtenida en el peak del cromatograma de la Muestra.
A_{std} : Área obtenida en el peak del cromatograma de la Solución estándar.
W_{std} : Peso en miligramos del estándar de Alfa Tocoferol.
Al_{std} : Alícuota utilizada para la preparación de la Solución estándar.
P_{std} : Potencia declarada del Patrón de Referencia.
Al_{mta} : Alícuota utilizada para la preparación de la Solución Muestra.

1.3.1.2.5. Criterio de aceptación

La muestra debe contener entre 160 – 230 mg/L de dl alfa tocoferol, correspondiente al 82 - 118% de la concentración nominal.

1.3.2. Criterios de evaluación para validar el método

1.3.2.1. Selectividad

La selectividad es la capacidad del método de medir con especificidad el analito en presencia de los componentes que pueden estar presentes en la matriz de la muestra, como impurezas, productos de degradación y componentes de la matriz. Para este caso, como no se cuenta con las impurezas conocidas, se someterán las muestras a condiciones de degradación forzada como: hidrólisis, hidrólisis acida, hidrólisis básica, oxidación, fotólisis y catalización por iones metálicos [10].

1.3.2.2. Robustez

La robustez de un procedimiento analítico es una medida de su capacidad para no verse afectado por variaciones pequeñas pero deliberadas en los parámetros del método y proporciona una indicación de su confiabilidad durante el uso rutinario del análisis. Generalmente esta evaluación se considera durante la fase de desarrollo del método [10].

Para la medición de la robustez se tomarán como desafió al método los siguientes cambios:

- Influencia de la temperatura de la columna
- Influencia de la velocidad de la fase móvil
- Influencia de volumen de inyección.

Estos deberán tener una recuperación del analito de un 95 -105% para que el cambio desafiado sea considerado como aprobado.

1.3.2.3. Límite de Cuantificación

El límite de cuantificación se define como la mínima concentración de un analito presente en una muestra, que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptables, en las condiciones experimentales establecidas. Este puede ser determinado por medio de la razón señal/ruido. Para tal caso, se realizará por medio de una curva y se comprobará la solución que resulte con la razón señal/ruido igual a 10.

1.3.2.4. Linealidad

La linealidad evalúa la relación lineal entre concentración y respuesta en todo el rango del procedimiento analítico. Consiste en las siguientes pruebas:

1.3.2.4.1. Linealidad del Método

Esta prueba consiste en una curva de 5 puntos que contemplen todo el rango analítico y que esté preparada con la solución muestra [10][11].

1.3.2.4.2. Linealidad del Sistema:

Esta prueba consiste en una curva de 5 puntos, que contemple todo el rango analítico y que esté preparada con estándar para eliminar el efecto de la matriz en la muestra (el efecto matriz si se considera en la linealidad del método, esto las diferencia).

Para ambos test de deberá realizar un gráfico de dispersión para comprobar visualmente la linealidad, además de los siguientes requerimientos:

- Coeficiente de correlación de Pearson, entre las variables, de acuerdo con la siguiente fórmula, donde este valor debe ser igual o mayor a 0,990:

$$r = \frac{\sum_{i=1}^{n}[(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\sqrt{\{[\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})^2][\sum_{i=1}^{n}(y_i - \bar{y})^2]\}}}$$

- Regresión de la recta por el método de los mínimos cuadrados donde:

$$y = a + bx$$

pendiente:

$$b = \frac{\sum_{i=1}^{n}[(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})^2}$$

intercepto:

$$a = \bar{y} - b\bar{x}$$

- Coeficiente de determinación, para mínimos cuadrados ordinarios donde este valor debe ser igual o superior a 0,980:

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^{n}(\hat{y}_i - \bar{y})^2}{\sum_{i=1}^{n}(y_i - \bar{Y})^2}$$

- Homocedasticidad a través de la prueba C de Cochran, donde se contrastan 2 hipótesis:

$$\begin{cases} H_0: \sigma_{y_1}^2 = \sigma_{y_2}^2 = \sigma_{y_3}^2 = \cdots = \sigma_{y_n}^2 \\ H_1: por\ lo\ menos\ un\ \sigma_{y_i}^2\ es\ diferente \end{cases}$$

Para el cálculo de C debe emplear la siguiente formula:

$$C = \frac{S_{y_i}^2 \max}{\sum_i^n S_{y_i}^2}$$

El C calculado debe ser comparado con el C tabla empleando un nivel de significancia del 5%, donde:

Si $C_{calculado} < C_{tabla}$, se acepta H_0
Si $C_{calculado} > C_{tabla}$, se rechaza H_0

1.3.2.5. Precisión

La precisión de un procedimiento analítico expresa la proximidad de la concordancia (grado de dispersión) entre una serie de mediciones obtenidas a partir de muestreos múltiples de la misma muestra homogéneas en las condiciones prescritas.

1.3.2.5.1. Repetibilidad

Esta prueba consiste en 9 determinaciones que cubran el rango analítico, estas deberán estar distribuidas en 3 niveles de concentración. Esta se evaluará mediante el coeficiente de variación (CV% ≤ 3,7) [12][13].

1.3.2.5.2. Precisión del sistema

Esta prueba consiste en las 9 determinaciones que se utilizaron para la repetibilidad, pero en esta se evaluarán los tiempos de retención mediante el coeficiente de variación (CV% ≤ 1%).

1.3.2.5.3. Precisión intermedia

Esta prueba consiste en 3 determinaciones que cubran el rango analítico, estas deberán estar distribuidas en 3 niveles de concentración, con la salvedad de que estas muestras serán realizadas por dos analistas diferentes y en días distintos. Esta será evaluada a través de t de student.

$$t = \frac{\bar{x}_d}{S_d}\sqrt{n}$$

Donde el contraste de hipótesis es el siguiente:

$$\begin{cases} H_0: \mu_d = 0 \\ H_1: \mu_d \neq 0 \end{cases}$$

Si T calculado < T tabla con n – 1 grados de libertad y un 5% para el nivel de significancia.

1.3.2.6. Exactitud

La exactitud en un método analítico se define como el radio de concordancia entre los resultados individuales obtenidos con el método, con relación a un valor de referencia aceptado como verdadero. Estas deben ser 9 determinaciones, en 3 niveles de concentración dentro del rango analítico.
Para la evaluación de este test, se calculará el porcentaje de recuperación el cual debe estar entre 95 – 105%. Además del coeficiente de variación para cada nivel de concentración [11][12].

$$\%\ de\ Recuperación = \frac{Concentración\ determinada\ experimental}{Concentración\ teórica} \times 100$$

CAPÍTULO 2: PARTE EXPERIMENTAL

PARTE EXPERIMENTAL

2.1. EQUIPOS Y MATERIALES

2.1.1. Equipos

- Balanza analítica Mettler Toledo, modelo XS205.
- Cromatógrafo Líquido Waters, modelo Alliance PDA.
- Pipeta electrónica Brand, modelo HandyStep Touch.
- Columna C18, 150 x 3,9mm;5 µm Waters, modelo Symmetry.
- Pre-Columna C18, 20 x 3,9mm;5 µm Waters, modelo Symmetry.
- Campana extracción de gases.

2.1.2. Materiales

- Material usual de laboratorio.
- Material de vidrio clase A.

2.2. REACTIVOS Y SOLUCIONES

2.2.1. Reactivos

- Alfa Tocoferol Grado Estándar, USP.
- Agua destilada para inyectables.
- Metanol Grado HPLC, MERCK.
- Acetonitrilo Grado HPLC, J.T. Baker.
- Tetrahidrofurano Grado HPLC, Sharlau.
- Etanol Absoluto Grado p.a; MERCK.
- Ácido Clorhídrico fumante Grado p.a; MERCK.
- Cloruro Férrico Grado Estándar, MERCK.
- Peróxido de Hidrogeno 30% Grado p.a; MERCK.
- Hidróxido de Sodio 1M Grado Reactivo, MERCK.
- Solución Parenteral, Emulsión para infusión.

2.2.2. Soluciones

- Fase Móvil: mezclar MeOH, ACN y Agua en una proporción de 50:50:2.
- Solución Estándar Alfa Tocoferol (1 mg/mL): masar con exactitud 100 mg de estándar primario dl Alfa Tocoferol, Transferir a un matraz volumétrico ámbar de 100 mL, disolver y llevar a volumen con EtOH absoluto.
- Solución Estándar Alfa Tocoferol (0,1 mg/mL): tomar una alícuota de 5 mL de la solución estándar Alfa Tocoferol 1 mg/mL, transferir a un matraz volumétrico ámbar de 50 mL, diluir y llevar a volumen con EtOH absoluto.
- Solución Estándar Alfa Tocoferol (0,01 mg/mL): tomar una alícuota de 1 mL de la solución estándar Alfa Tocoferol 0,1 mg/mL, transferir a un matraz volumétrico ámbar de 10 mL, diluir y llevar a volumen con EtOH absoluto.

2.2.3. Tratamiento de Muestra

Tomar una alícuota de 1 mL del producto terminado emulsión Parenteral, transferir a un matraz volumétrico de 20 mL, agregar 3 mL de Tetrahidrofurano, agitar bien. Luego diluir y llevar a volumen con EtOH absoluto.

2.3. CONDICIONES CROMATÓGRAFICAS

- Detector PDA a 290 nm.
- Columna C18; 150 x 3,9 mm; 5 µm.
- Pre-Columna C18, 20 x 3,9mm;5 µm.
- Temperatura de horno de columna a 25°C ± 5°C.
- Temperatura de automuestreador a 20°C ± 5°C.
- Flujo de fase móvil a 2,0 mL/minuto.
- Volumen de inyección de 20 µL.
- Tiempo de Análisis de 10 minutos.

2.4. PROCEDIMIENTO

2.4.1 System suitability (Aptitud del Método)

Para la realización de una prueba de aptitud del método o system suitability, es necesario contar con el cromatógrafo líquido ambientado a las condiciones del análisis. Luego de esto se inyecta el volumen requerido por la técnica en sextuplicado para la solución estándar de alfa tocoferol 0,01 mg/mL. (Ver Figura 3-1.1). Finalmente se chequean los criterios de aceptación. (Ver Tabla 3-1.1)

2.4.2 Selectividad

Se toman em sextuplicado una alícuota de 9 mL de un pool de emulsión parenteral y se transfieren individualmente a 6 balones de fondo redondo, para luego adicionar cada agente degradante:

- Hidrólisis: Se calienta con reflujo un balón de fondo redondo que contiene la muestra de emulsión parenteral a aproximadamente 70°C por 2 horas.

- Hidrólisis ácida: se adiciona 1 mL de ácido clorhídrico 1N a un balón de fondo redondo que contiene la muestra de emulsión parenteral, se agita para homogeneizar y se calienta con reflujo a aproximadamente 70°C por 2 horas. Se deja enfriar y se neutraliza con hidróxido de sodio 1N.

- Hidrólisis básica: se adiciona 1 mL de hidróxido de sodio 1N a un balón de fondo redondo que contiene la muestra de emulsión parenteral, se agita para homogeneizar y se calienta con reflujo a aproximadamente 70°C por 2 horas. Se deja enfriar y se neutraliza con ácido clorhídrico 1N.

- Fotólisis: se somete un balón de fondo redondo que contiene la muestra de emulsión parenteral a exposición a luz UV 254 nm durante 2 horas.

- Oxidación: se adiciona 1 mL de peróxido de hidrógeno al 30%, a un balón de fondo redondo que contiene la muestra de emulsión parenteral, se agita para homogeneizar y se calienta con reflujo a aproximadamente 70°C por 2 horas.

- Iones metálicos: se adiciona 1 mL de cloruro férrico de 1000 ppm de Hierro, a un balón de fondo redondo que contiene la muestra de emulsión parenteral, se agita para homogeneizar y se calienta con reflujo a aproximadamente 70°C por 2 horas.

Luego se preparan las soluciones muestra se indica en el punto 2.2.2. y se inyectan al cromatógrafo líquido en triplicado.(Ver Figuras 3-2.1 a 3-2.9).

2.4.3 Robustez

Se prepara una muestra y un estándar al 100% para luego inyectarlas al cromatógrafo líquido en triplicado (Ver Figura 3-3.1 a 3-3.14). Estas soluciones se someten a las influencias planteadas en el punto 1.3.2.2.

2.4.4 Límite de cuantificación

Se preparan soluciones de concentración decreciente en base a la señal ruido detectada para el analito en las pruebas donde se utiliza la solución al 100%, estas soluciones se obtienen de la siguiente manera:

- Solución muestra al 150% (292,50 mg/L): se toma un alícuota de 1,5 mL de un pool de emulsión parenteral, se transfieren a un matraz volumétrico de 20 mL, se adicionan 4,5 mL de THF, se agita para homogeneizar y se lleva a volumen con EtOH absoluto.

- Solución muestra al 120% (234,00 mg/L): se toma un alícuota de 1,2 mL de un pool de emulsión parenteral, se transfieren a un matraz volumétrico de 20 mL, se adicionan 3,6 mL de THF, se agita para homogeneizar y se lleva a volumen con EtOH absoluto.

- Solución muestra al 100% (195,00 mg/L): se toma un alícuota de 1,0 mL de un pool de emulsión parenteral, se transfieren a un matraz volumétrico de 20 mL, se adicionan 3,0 mL de THF, se agita para homogeneizar y se lleva a volumen con EtOH absoluto.

- Solución muestra al 80% (156,00 mg/L): se toma un alícuota de 0,8 mL de un pool de emulsión parenteral, se transfieren a un matraz volumétrico de 20 mL, se adicionan 2,4 mL de THF, se agita para homogeneizar y se lleva a volumen con EtOH absoluto.

- Solución muestra al 50% (97,50 mg/L): se toma un alícuota de 0,5 mL de un pool de emulsión parenteral, se transfieren a un matraz volumétrico de 20 mL, se adicionan 1,5 mL de THF, se agita para homogeneizar y se lleva a volumen con EtOH absoluto.

- Solución muestra al 35% (54,60 mg/L): se toma un alícuota de 0,35 mL de un pool de emulsión parenteral, se transfieren a un matraz volumétrico de 20 mL, se adicionan 1,05 mL de THF, se agita para homogeneizar y se lleva a volumen con EtOH absoluto.

- Solución muestra al 25% (48,75 mg/L): se toma un alícuota de 0,25 mL de un pool de emulsión parenteral, se transfieren a un matraz volumétrico de 20 mL, se adicionan 0,75 mL de THF, se agita para homogeneizar y se lleva a volumen con EtOH absoluto.

- Solución muestra al 20% (39,00 mg/L): se toma un alícuota de 0,20 mL de un pool de emulsión parenteral, se transfieren a un matraz volumétrico de 20 mL, se adicionan 0,6 mL de THF, se agita para homogeneizar y se lleva a volumen con EtOH absoluto.

- Solución muestra al 15% (29,25 mg/L): se toma un alícuota de 0,15 mL de un pool de emulsión parenteral, se transfieren a un matraz volumétrico de 20 mL, se adicionan 0,45 mL de THF, se agita para homogeneizar y se lleva a volumen con EtOH absoluto.

Por último, se inyectan en triplicado al cromatógrafo líquido para obtener las respuestas. (Ver Figuras 3-5.1 a 3-5.10).

2.4.5 Linealidad

2.4.5.1 Linealidad del Método

Se preparan 5 soluciones de concentración creciente, que van desde el 50% hasta el 150% de la siguiente forma:

- Solución muestra al 50% (97,50 mg/L): se toma un alícuota de 0,5 mL de un pool de emulsión parenteral, se transfieren a un matraz volumétrico de 20 mL, se adicionan 1,5 mL de THF, se agita para homogeneizar y se lleva a volumen con EtOH absoluto.

- Solución muestra al 80% (156,00 mg/L): se toma un alícuota de 0,8 mL de un pool de emulsión parenteral, se transfieren a un matraz volumétrico de 20 mL, se adicionan 2,4 mL de THF, se agita para homogeneizar y se lleva a volumen con EtOH absoluto.

- Solución muestra al 100% (195,00 mg/L): se toma un alícuota de 1,0 mL de un pool de emulsión parenteral, se transfieren a un matraz volumétrico de 20 mL, se adicionan 3,0 mL de THF, se agita para homogeneizar y se lleva a volumen con EtOH absoluto.

- Solución muestra al 120% (234,00 mg/L): se toma un alícuota de 1,2 mL de un pool de emulsión parenteral, se transfieren a un matraz volumétrico de 20 mL, se adicionan 3,6 mL de THF, se agita para homogeneizar y se lleva a volumen con EtOH absoluto.

- Solución muestra al 150% (292,50 mg/L): se toma un alícuota de 1,5 mL de un pool de emulsión parenteral, se transfieren a un matraz volumétrico de 20 mL, se adicionan 4,5 mL de THF, se agita para homogeneizar y se lleva a volumen con EtOH absoluto.

Por último, se inyectan en triplicado al cromatógrafo líquido para obtener las respuestas. (Ver Figuras 3-4.1 a 3-4.5).

2.4.5.2 Linealidad del Sistema

Se prepara una solución de estándar alfa tocoferol de concentración estimada 0,05 mg/mL, para ser utilizada como solución madre. Luego se preparan 5 soluciones de concentración creciente, que van desde el 50% hasta el 150% de la siguiente forma:

- Solución muestra al 50% (97,50 mg/L): se toma un alícuota de 1,0 mL de un pool de emulsión parenteral, se transfieren a un matraz volumétrico de 10 mL, se diluye y se lleva a volumen con EtOH absoluto.

- Solución muestra al 80% (156,00 mg/L): se toma un alícuota de 1,6 mL de un pool de emulsión parenteral, se transfieren a un matraz volumétrico de 10 mL, se diluye y se lleva a volumen con EtOH absoluto.

- Solución muestra al 100% (195,00 mg/L): se toma un alícuota de 2,0 mL de un pool de emulsión parenteral, se transfieren a un matraz volumétrico de 10 mL, se diluye y se lleva a volumen con EtOH absoluto.

- Solución muestra al 120% (234,00 mg/L): se toma un alícuota de 2,4 mL de un pool de emulsión parenteral, se transfieren a un matraz volumétrico de 10 mL, se diluye y se lleva a volumen con EtOH absoluto.

- Solución muestra al 150% (292,50 mg/L): se toma un alícuota de 3,0 mL de un pool de emulsión parenteral, se transfieren a un matraz volumétrico de 10 mL, se diluye y se lleva a volumen con EtOH absoluto.

Por último, se inyectan en triplicado al cromatógrafo líquido para obtener las respuestas. (Ver Figuras 3-4.6 a 3-4.10).

2.4.6 Precisión

2.4.6.1 Repetibilidad

Se preparan 3 niveles de concentración en triplicado, que van desde el 50% hasta el 150% de la siguiente forma:

- Solución muestra al 50% (97,50 mg/L): se toma un alícuota de 0,5 mL de un pool de emulsión parenteral, se transfieren a un matraz volumétrico de 20 mL, se adicionan 1,5 mL de THF, se agita para homogeneizar y se lleva a volumen con EtOH absoluto.

- Solución muestra al 100% (195,00 mg/L): se toma un alícuota de 1,0 mL de un pool de emulsión parenteral, se transfieren a un matraz volumétrico de 20 mL, se adicionan 3,0 mL de THF, se agita para homogeneizar y se lleva a volumen con EtOH absoluto.

- Solución muestra al 150% (292,50 mg/L): se toma un alícuota de 1,5 mL de un pool de emulsión parenteral, se transfieren a un matraz volumétrico de 20 mL, se adicionan 4,5 mL de THF, se agita para homogeneizar y se lleva a volumen con EtOH absoluto.

Por último, se inyectan en triplicado al cromatógrafo líquido para obtener las respuestas. (Ver Figuras 3-6.1 a 3-6.9). De este proceso se obtienen también las mediciones para la precisión del sistema, aplicado a los tiempos de retención del analito.

2.4.6.2 Precisión Intermedia

En dos días diferentes, con la ayuda de un segundo analista, se preparan 3 soluciones de concentración creciente, que van desde el 50% a 150% de la siguiente forma:

- Solución muestra al 50% (97,50 mg/L): se toma un alícuota de 0,5 mL de un pool de emulsión parenteral, se transfieren a un matraz volumétrico de 20 mL, se adicionan 1,5 mL de THF, se agita para homogeneizar y se lleva a volumen con EtOH absoluto.

- Solución muestra al 100% (195,00 mg/L): se toma un alícuota de 1,0 mL de un pool de emulsión parenteral, se transfieren a un matraz volumétrico de 20 mL, se adicionan 3,0 mL de THF, se agita para homogeneizar y se lleva a volumen con EtOH absoluto.

- Solución muestra al 150% (292,50 mg/L): se toma un alícuota de 1,5 mL de un pool de emulsión parenteral, se transfieren a un matraz volumétrico de 20 mL, se adicionan 4,5 mL de THF, se agita para homogeneizar y se lleva a volumen con EtOH absoluto.

Por último, se inyectan en triplicado al cromatógrafo líquido para obtener las respuestas. (Ver Figuras 3-6.10 a 3-6.18).

2.4.7 Exactitud

Se realiza una carga a la muestra con una solución estándar de alfa tocoferol 0,05 mg/mL, para obtener las soluciones de concentración conocida, estas se preparan en triplicado de la siguiente manera:

- Solución muestra al 100% (195,00 mg/L): se toma un alícuota de 1,0 mL de un pool de emulsión parenteral, se transfieren a un matraz volumétrico de 20 mL, se adicionan 3,0 mL de THF, se agita para homogeneizar y se lleva a volumen con EtOH absoluto.

- Solución muestra al 120% (234,00 mg/L): se toma un alícuota de 1,0 mL de un pool de emulsión parenteral, se transfieren a un matraz volumétrico de 20 mL, se adicionan 3,0 mL de THF, se agita para homogeneizar, se añade una alícuota de 0,8 mL de la solución estándar de alfa tocoferol 0,05 mg/mL, se diluye y lleva a volumen con EtOH absoluto.

- Solución muestra al 150% (292,50 mg/L): se toma un alícuota de 1,0 mL de un pool de emulsión parenteral, se transfieren a un matraz volumétrico de 20 mL, se adicionan 3,0 mL de THF, se agita para homogeneizar, se añade una alícuota de 2,0 mL de la solución estándar de alfa tocoferol 0,05 mg/mL, se diluye y lleva a volumen con EtOH absoluto.

Por último, se inyectan en triplicado al cromatógrafo líquido para obtener las respuestas. Estas se cuantifican con un estándar de alfa tocoferol 0,010 mg/mL. (Ver Figuras 3-7.1 a 3-7.14).

CAPÍTULO 3: RESULTADOS

RESULTADOS

3.1 SYSTEM SUITABILITY (APTITUD DEL SISTEMA)

Para la prueba de system suitability se realizan inyecciones seriadas de una solución de estándar dl alfa tocoferol 0,01 mg/mL, para corroborar y garantizar un adecuado rendimiento del sistema cromatográfico. (ver Tabla 3-1.1.).

Tabla 3-1.1. Criterios de aceptación para System Suitability

Parámetro	Valor Obtenido	Criterio de Aceptación
Asimetría del peak dl α-Tocoferol	1,1	0,8 – 1,5
	1,1	
RDS% de Áreas del peak dl α-Tocoferol	1,8%	≤ 2 %
	0,1%	
RDS% de TR del peak dl α-Tocoferol	0,1%	≤ 1 %
	0,1%	

Los criterios de verificación para el system suitability se dan por aceptados, ya que cada uno cumple con la especificación requerida por el método analítico. (Ver Figuras 3-1.1 y 3-1.2).

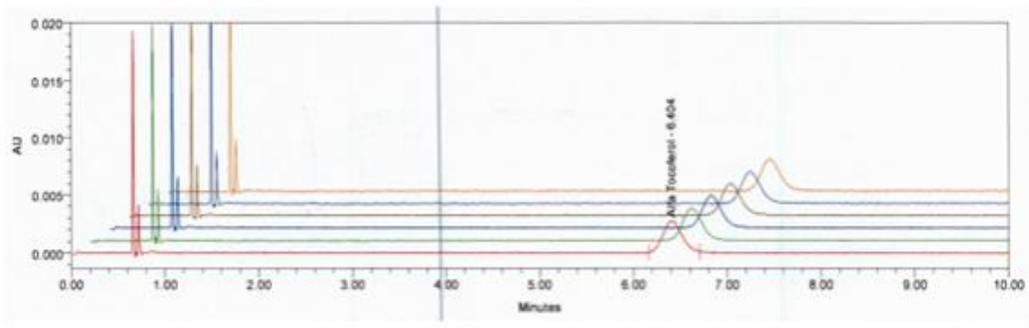


Figura 3-1.1. Cromatograma System Suitability.

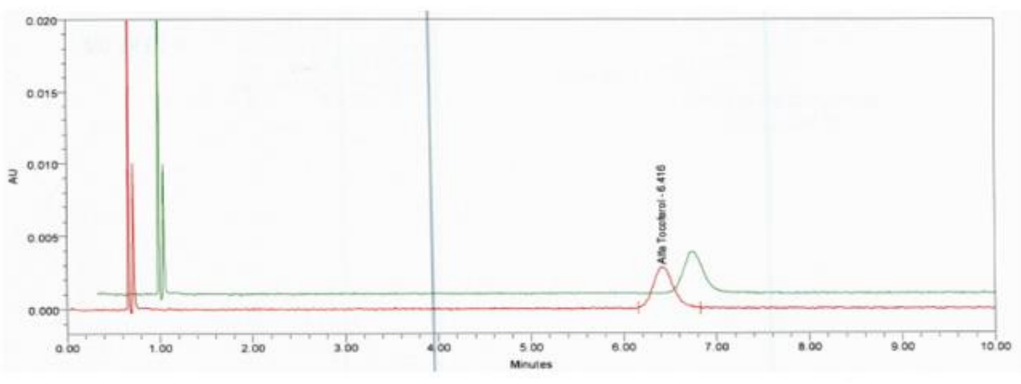


Figura 3-1.2. Cromatograma Bracketing - System Suitability.

3.2 SELECTIVIDAD

El segundo análisis planteado es la selectividad para la identificación y cuantificación del analito dl α-Tocoferol. Con esto se realizaron degradaciones forzadas de la muestra a diferentes condiciones de estrés para formar impurezas asociadas al analito y a los componentes que forman la emulsión parenteral.

De los datos adquiridos de este ensayo se puede observar que los tiempos de retención del analito dl α-Tocoferol y las sustancias relacionadas no identificadas no sufren alteraciones (ver tabla 3-2.1.). Adicionalmente se analizan las áreas de cada degradación forzada, resultando ser la catalización por iones metálicos, la más agresiva con la molécula, seguidos con la oxidación, hidrolisis básica, hidrólisis, hidrolisis ácida y finalmente con a fotólisis, esta última no genera mayor impacto por la estabilidad de la molécula a esta condición. (ver tabla 3-2.2.).

Tabla 3-2.1. Tiempos de Retención (TR) para los peaks detectados

Muestra	TR Peaks Detectados			
	RRT 0,47	RRT 0,72	RRT 0,85	Dlα-Tocoferol
STD S.E.	-	-	-	6,4
MTA S.E.	-	4,6	5,5	6,4
Fotólisis	-	4,6	5,5	6,4
Hidrolisis	-	4,6	5,5	6,4
Hidrólisis Ácida	-	4,6	5,5	6,4
Hidrólisis Básica	-	4,6	5,5	6,4
Oxidación	3,0	4,6	5,5	6,4
Iones Metálicos	-	-	-	-

Tabla 3-2.2. Áreas para los peaks detectados

Muestra	Áreas Peaks Detectados			
	RRT 0,47	RRT 0,72	RRT 0,85	Dlα-Tocoferol
STD S.E.	-	-	-	42300
MTA S.E.	-	3755	10701	37898
Fotólisis	-	4108	10047	37550
Hidrolisis	-	8351	9027	30242
Hidrólisis Ácida	-	3551	8741	31688
Hidrólisis Básica	-	2876	7106	23714
Oxidación	4602	2272	4443	3745
Iones Metálicos	-	-	-	-

Tabla 3-2.3. Señal/Ruido de los peaks detectados

Muestra	S/N Peaks Detectados			
	RRT 0,47	RRT 0,72	RRT 0,85	Dl α-Tocoferol
STD S.E.	-	-	-	44
MTA S.E.	-	6	14	49
Fotólisis	-	4	10	38
Hidrolisis	-	7	11	36
Hidrólisis Ácida	-	4	10	36
Hidrólisis Básica	-	4	8	27
Oxidación	9	3	4	4
Iones Metálicos	-	-	-	-

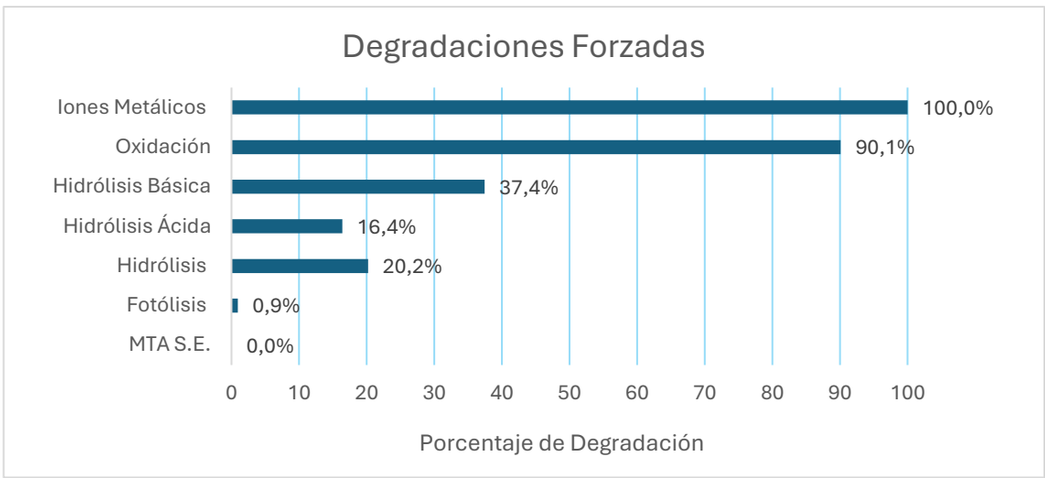


Gráfico 3-2.1. Tipos de Degradación V/S Porcentaje de degradación.

Como evidencia de la selectividad del método, se muestra a continuación los cromatogramas de las soluciones inyectadas para este test, donde se puede observar que no se detectan interferencias para la cuantificación del analito. (Ver figuras 3-2.1 a 3-2.9).

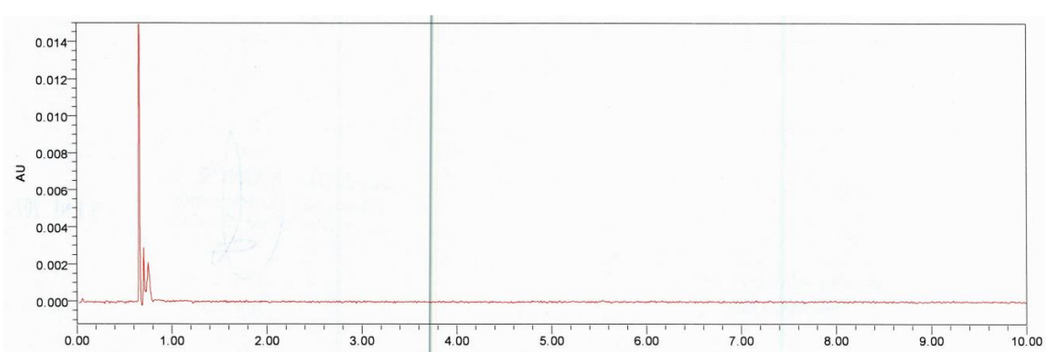


Figura 3-2.1. Cromatograma Blanco Diluyente

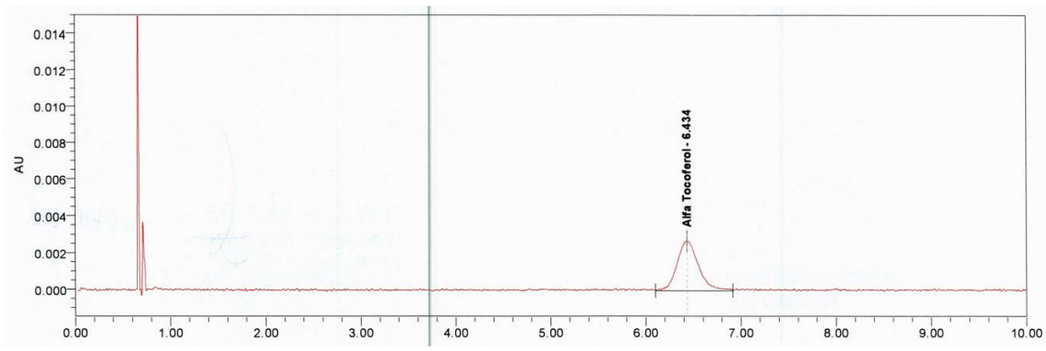


Figura 3-2.2. Cromatograma Solución Estándar.

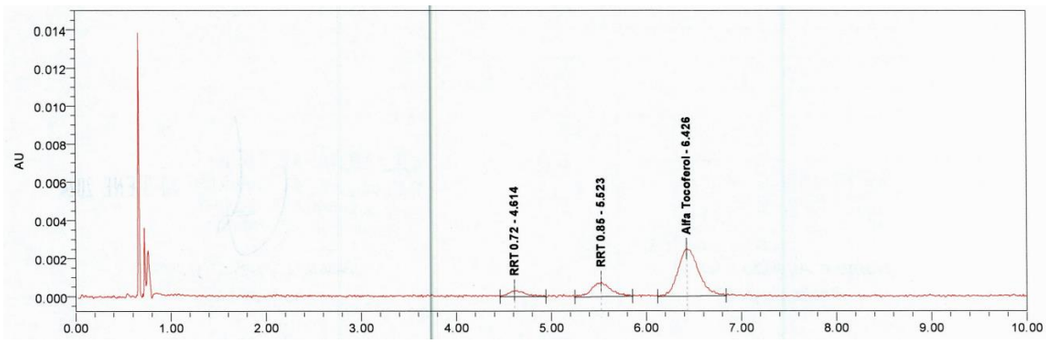


Figura 3-2.3. Cromatograma Solución Muestra S.E.

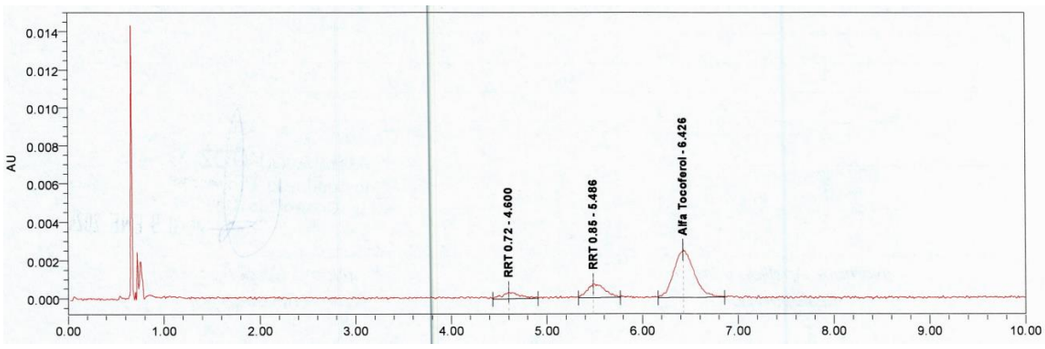


Figura 3-2.4. Cromatograma de DF - Fotólisis.

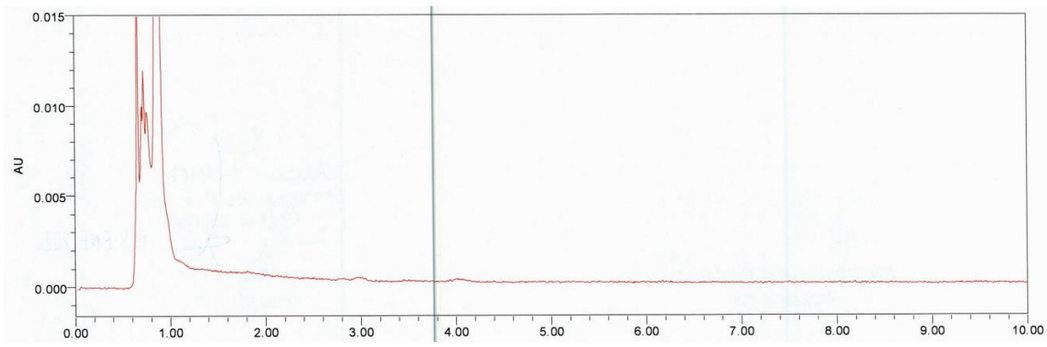


Figura 3-2.5. Cromatograma de DF - Iones Metálicos.

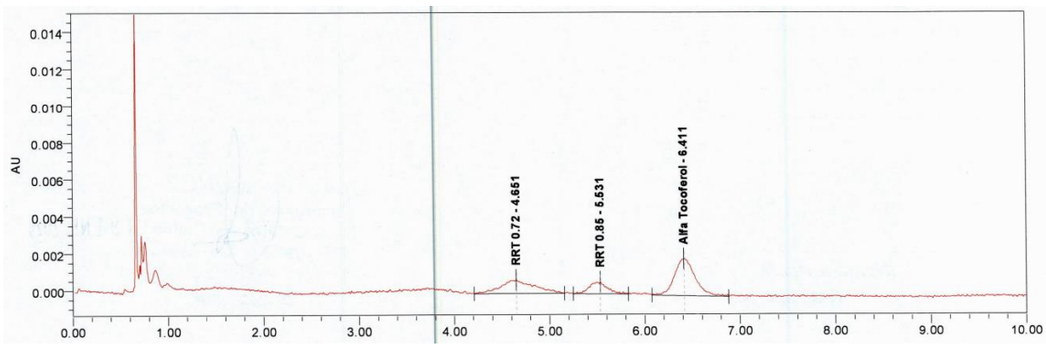


Figura 3-2.6. Cromatograma de DF - Hidrólisis.

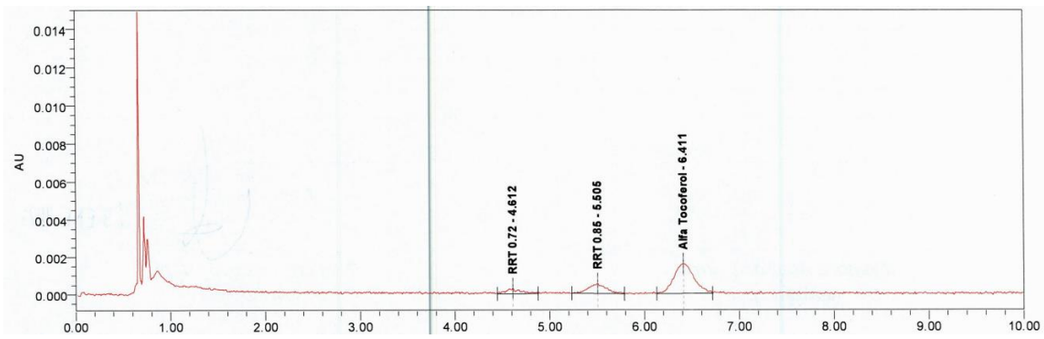


Figura 3-2.7. Cromatograma de DF - Hidrólisis Básica.

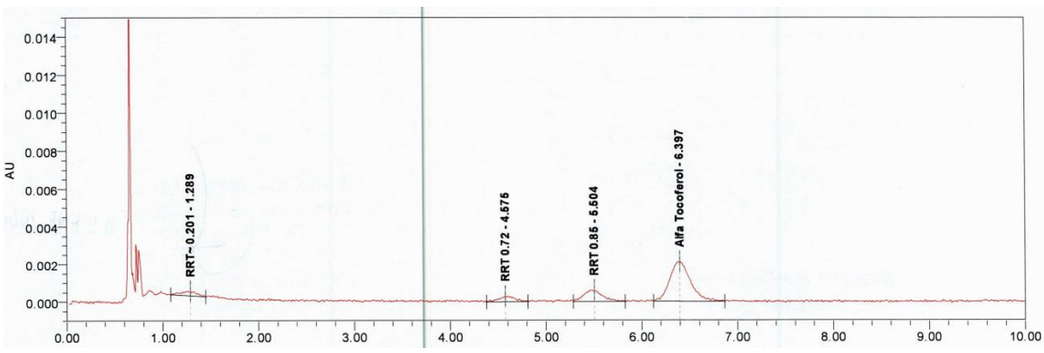


Figura 3-2.8. Cromatograma de DF - Hidrólisis Ácida.

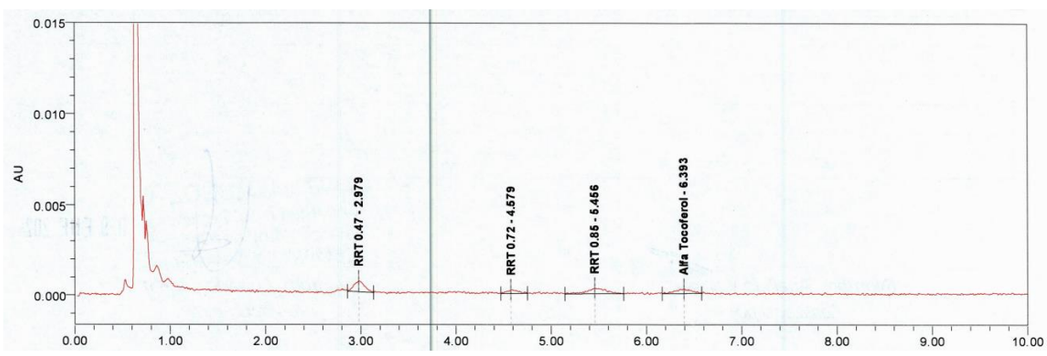


Figura 3-2.9. Cromatograma de DF - Oxidación.

Debido a las características del detector utilizado (UV- DAD), se pueden obtener los espectros UV de los peaks detectados al utilizar un rango de barrido para la medición de la señal. Donde se pueden observar los máximos de absorción, los cuales están alrededor de 290 nm, que es la longitud de onda seleccionada para el método. (Ver figuras de 3-2.10 a 3-2.18)

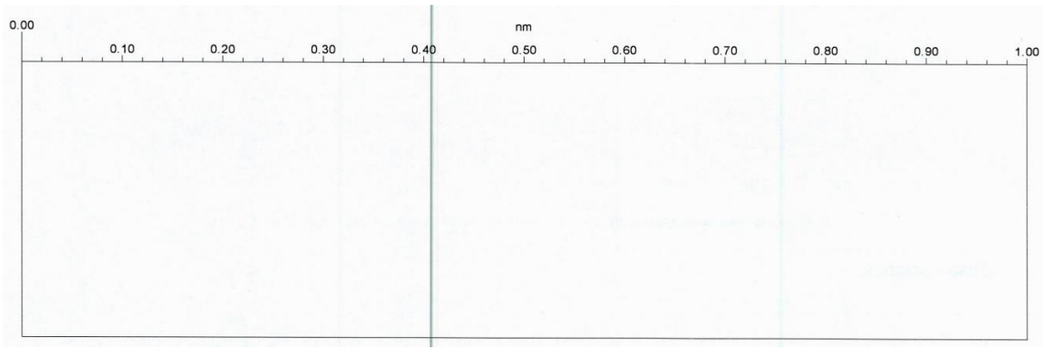


Figura 3-2.10. Espectro Blanco Diluyente.

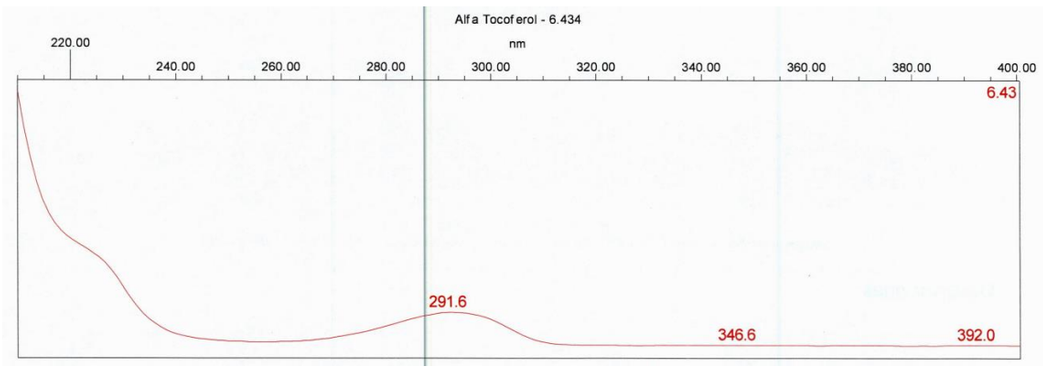


Figura 3-2.11. Espectro Solución Estándar.

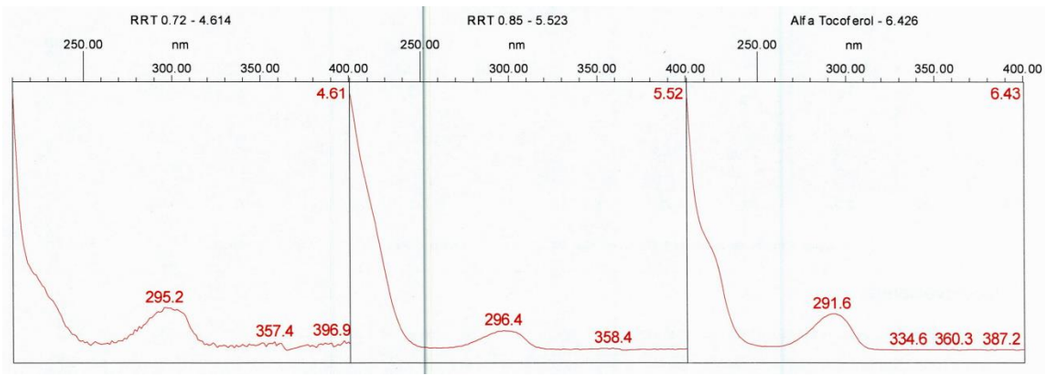


Figura 3-2.12. Espectro Solución Muestra S.E.

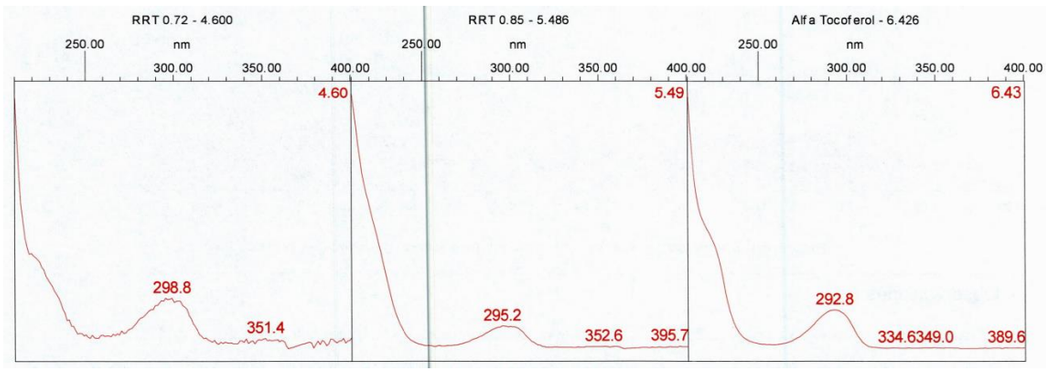


Figura 3-2.13. Espectro peaks detectados en DF - Fotolisis.

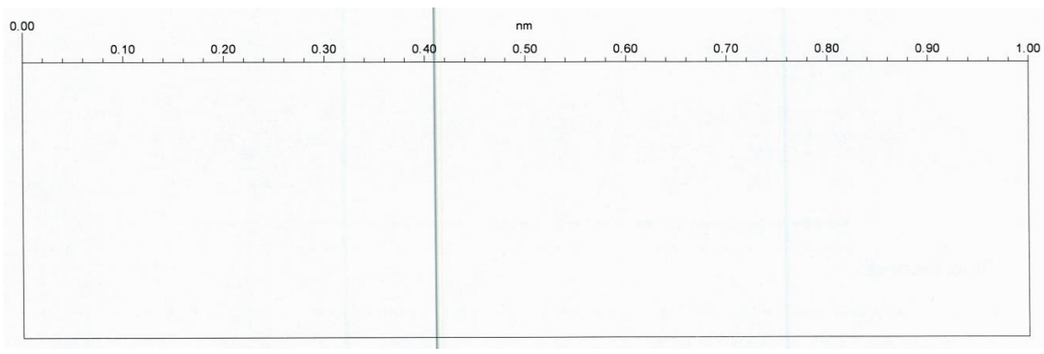


Figura 3-2.14. Espectro peaks detectados en DF - Iones Metálicos.

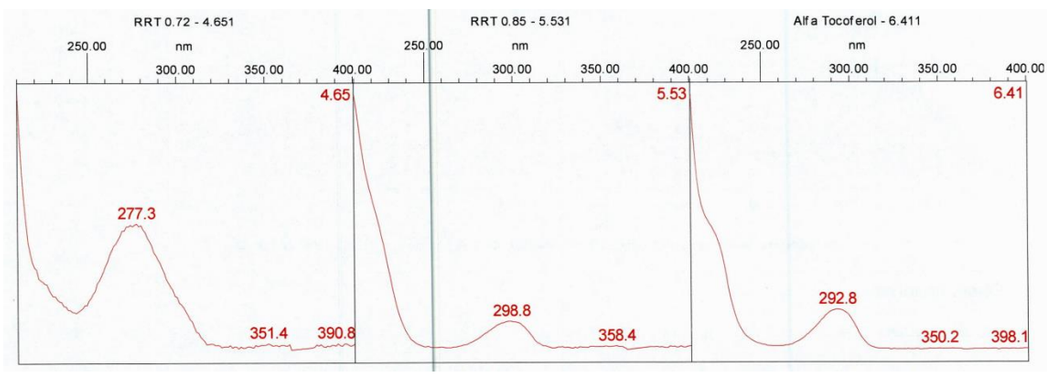


Figura 3-2.15. Espectro peaks detectados en DF- Hidrólisis.

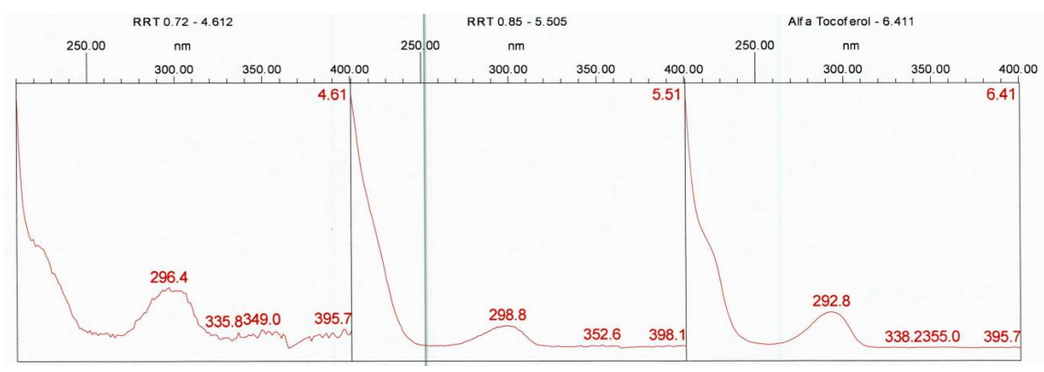


Figura 3-2.16. Espectro peaks detectados en DF – Hidrólisis Básica.

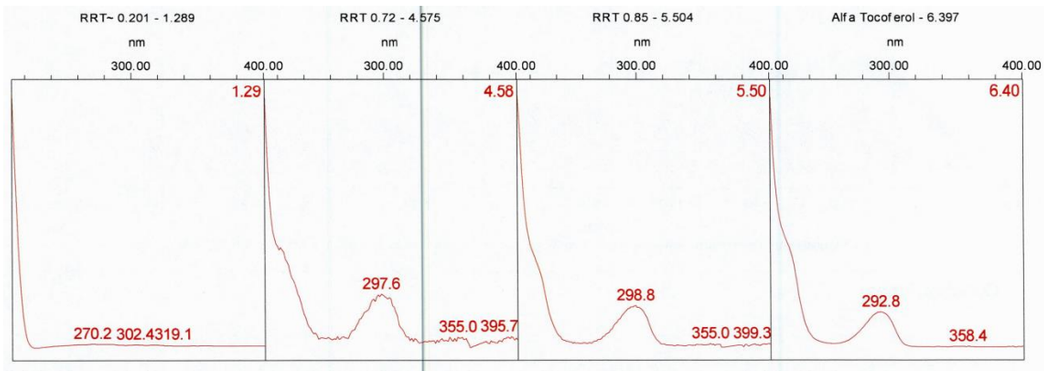


Figura 3-2.17. Espectro peaks detectados en DF – Hidrólisis Ácida.

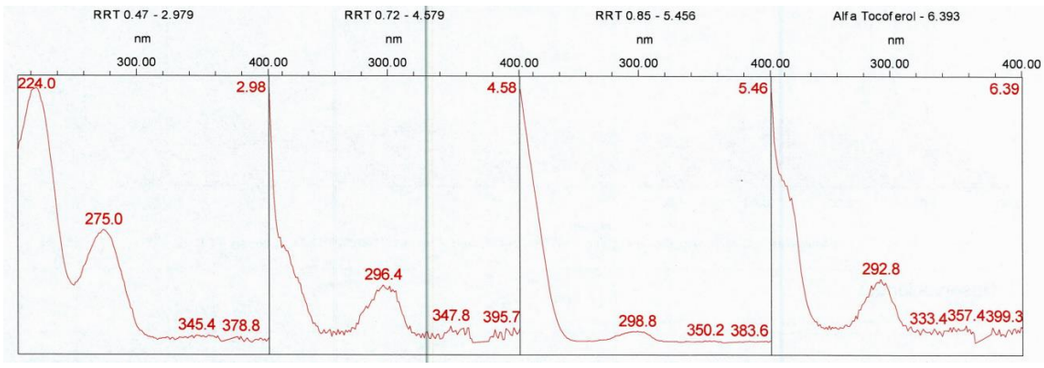


Figura 3-2.18. Espectro peaks detectados en DF – Oxidación.

3.3. ROBUSTEZ

El tercer ensayo realizado se plantean pequeñas desviaciones al método analítico con la intención de desafiar la robustez de este.

La influencia de cada uno de los cambios propuestos genera una mayor recuperación del analito, siendo la de mayor impacto, la condición de 15°C para la columna (Ver tabla 3-3.1). Adicionalmente se revisan los parámetros cromatográficos del peak de interés en cada cambio realizado, donde se muestra que estos cambios no afectan significativamente dichos parámetros, a excepción de los tiempos de retención que se ven influenciados por el flujo de trabajo y la temperatura de la columna, teniendo el analito un menor tiempo de interacción con la fase estacionaria, por ende, una elución más rápida. (Ver tabla 3-3.2).

Tabla 3-3.1. Desviaciones del método y efecto sobre el recobro.

Parámetro		Área STD	Área Muestra	Concentración Experimental (mg/mL)	Concentración Teórica (mg/mL)	Recobro (%)
Muestra al 100%		39823 39564 40851	37454 37083 37636	187,43	187,43	100
Flujo de Trabajo	1,9 mL/min	38900 39974 39307	38100 38389 37050	193,02	187,43	103
	2,1 mL/min	37149 36384 36141	34538 34600 34871	193,53	187,43	102
Volumen de Inyección	10 µL	18117 18118 18283	17544 17595 17289	193,21	187,43	103
	30 µL	56862 58614 59264	54777 54848 55462	189,81	187,43	101
Temperatura del Horno Columna	15°C	36977 36642 36573	36199 35087 36370	196,28	187,43	105
	35°C	40029 39774 40048	37487 36904 36875	186,52	187,43	100

Tabla 3-3.2. Desviaciones del método y efecto sobre la cromatografía.

Parámetro		TR		Platos Teóricos		Resolución		Asimetría	
		STD	MTA	STD	MTA	STD	MTA	STD	MTA
Método sin Cambios		6,4	6,4	4227	4397	-	2,3	1,1	1,2
		6,4	6,4	4508	4428	-	2,5	1,1	1,2
		6,4	6,4	4096	4423	-	2,4	1,2	1,3
Flujo de Trabajo	1,9 mL/min	6,7	6,7	4336	4370	-	2,6	1,1	1,2
		6,7	6,7	4547	4629	-	2,4	1,2	1,2
		6,7	6,7	4505	4362	-	2,4	1,2	1,2
	2,1 mL/min	6,1	6,1	4208	4352	-	2,5	1,1	1,2
		6,1	6,1	4108	4156	-	2,3	1,1	1,2
		6,1	6,1	4203	4194	-	2,5	1,1	1,1
Volumen de Inyección	10 µL	6,4	6,3	4892	3947	-	3,6	1,1	1,2
		6,4	6,4	4533	56490	-	13,0	1,0	1,1
		6,3	6,4	4312	4258	-	4,3	1,1	1,1
	30 µL	6,3	6,3	3779	3889	-	2,4	1,1	1,2
		6,3	6,3	3728	3913	-	2,3	1,2	1,2
		6,3	6,3	3715	4056	-	2,3	1,2	1,2
Temperatura del Horno Columna	15°C	8,6	8,6	4222	5563	-	4,6	1,2	1,0
		8,7	8,7	4298	4082	-	4,2	1,0	1,1
		8,6	8,6	3744	4185	-	2,5	1,1	1,1
	35°C	4,8	4,8	4254	4360	-	2,3	1,2	1,2
		4,8	4,8	4280	4364	-	2,3	1,2	1,2
		4,8	4,8	4195	4387	-	2,3	1,2	1,2

Como evidencia de la robustez del método, se muestra a continuación los cromatogramas de las soluciones inyectadas para este test. (Ver figuras 3-3.1 a 3-3.14)

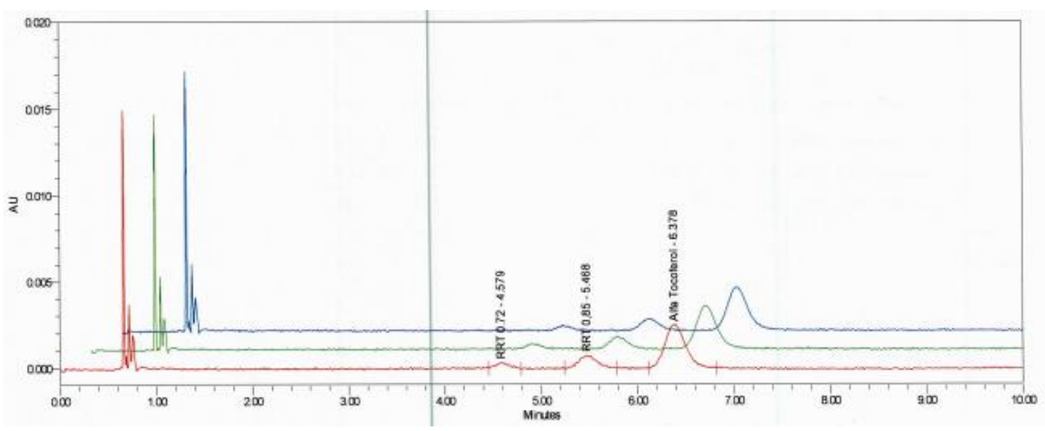


Figura 3-3.1. Cromatograma Solución MTA 100% sin cambios del Método.

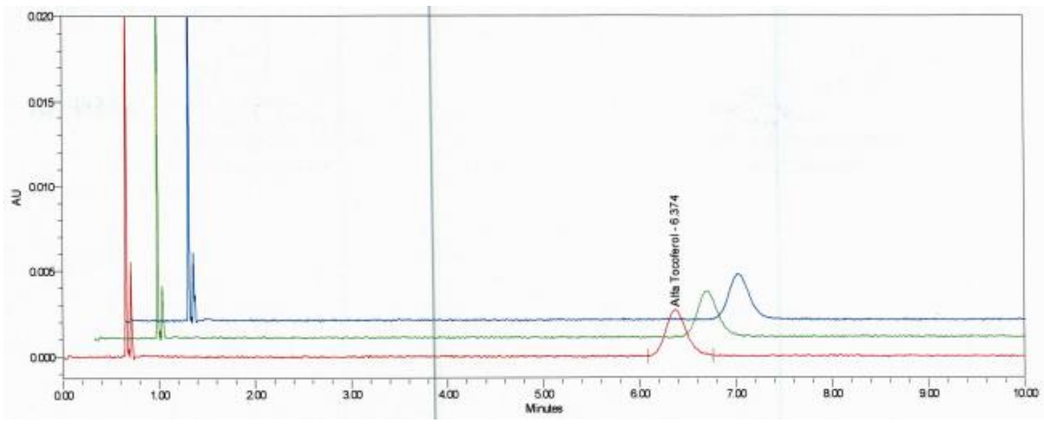


Figura 3-3.2. Cromatograma Solución STD 100% sin cambios del Método.

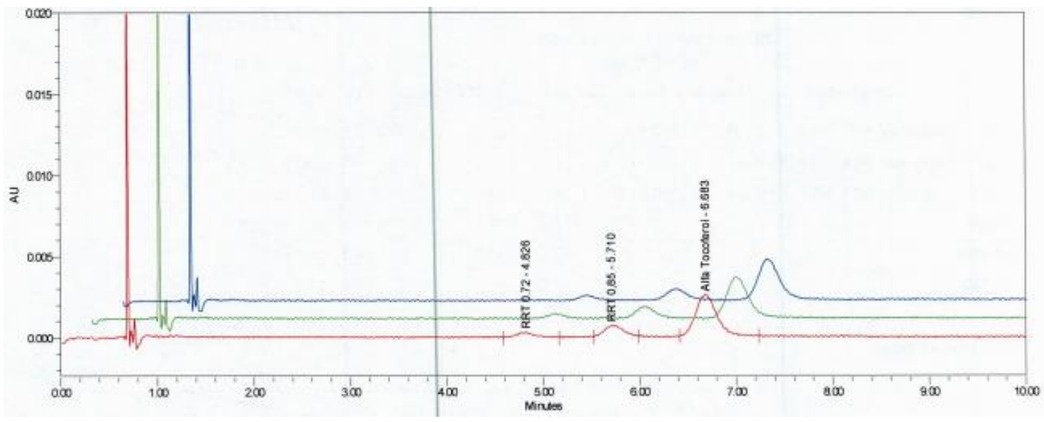


Figura 3-3.3. Cromatograma Solución MTA 100% con Flujo 1,9 mL/min.

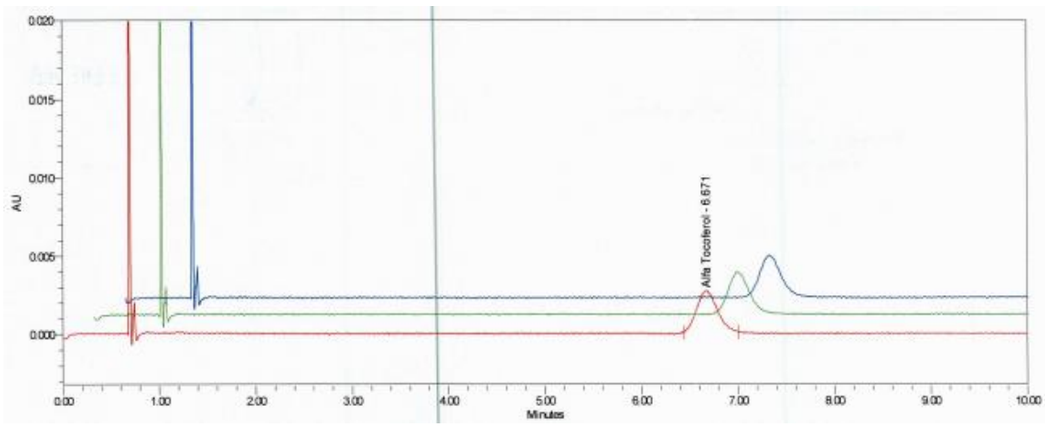


Figura 3-3.4. Cromatograma Solución STD 100% con Flujo 1,9 mL/min.

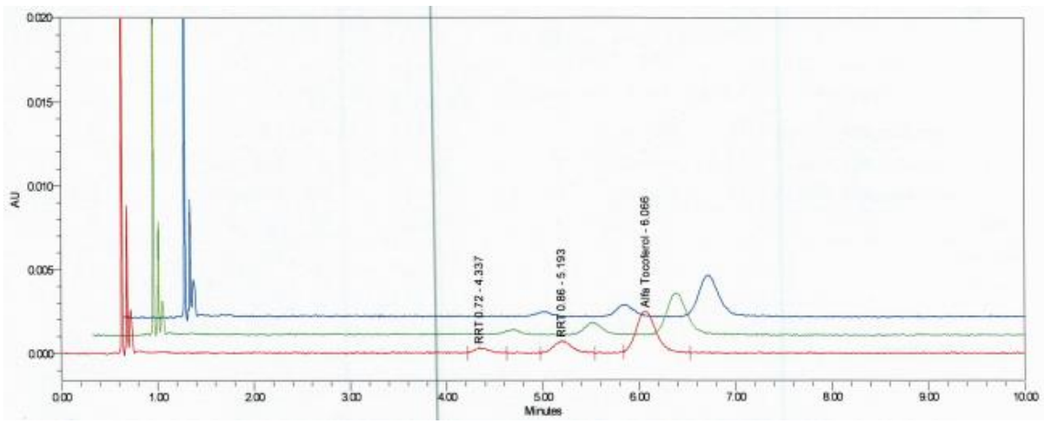


Figura 3-3.5. Cromatograma Solución MTA 100% con Flujo 2,1 mL/min.

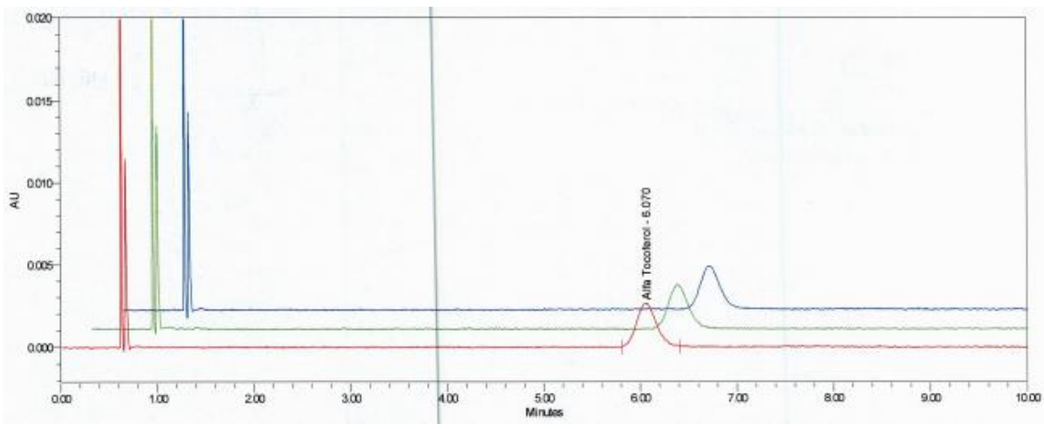


Figura 3-3.6. Cromatograma Solución STD 100% con Flujo 2,1 mL/min.

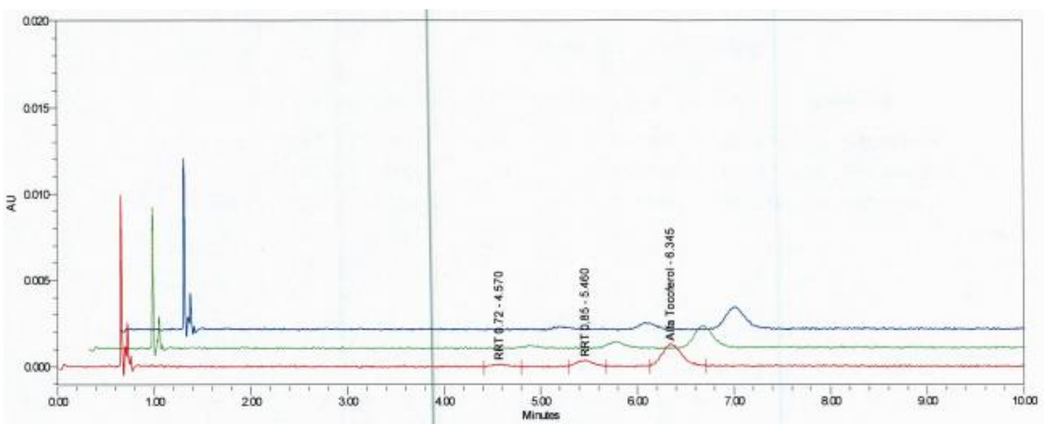


Figura 3-3.7. Cromatograma Solución MTA 100% con inyección 10 µL.

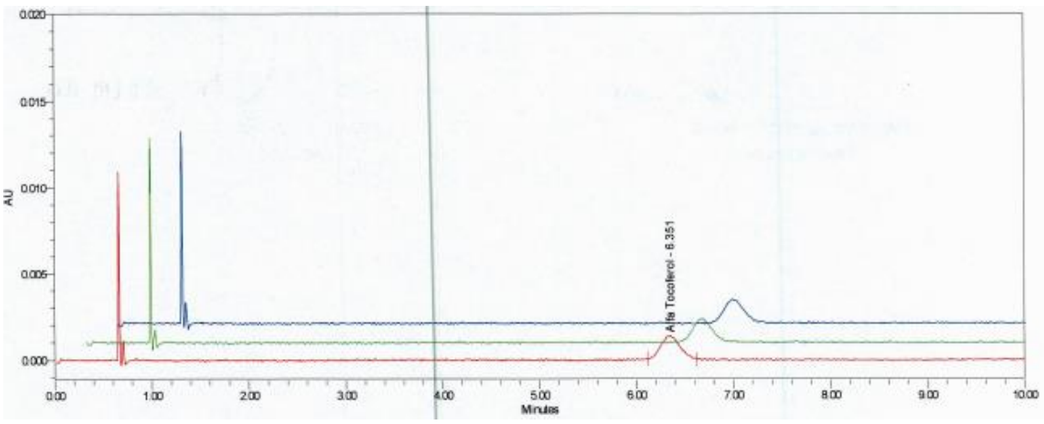


Figura 3-3.8. Cromatograma Solución STD 100% con inyección 10 µL.

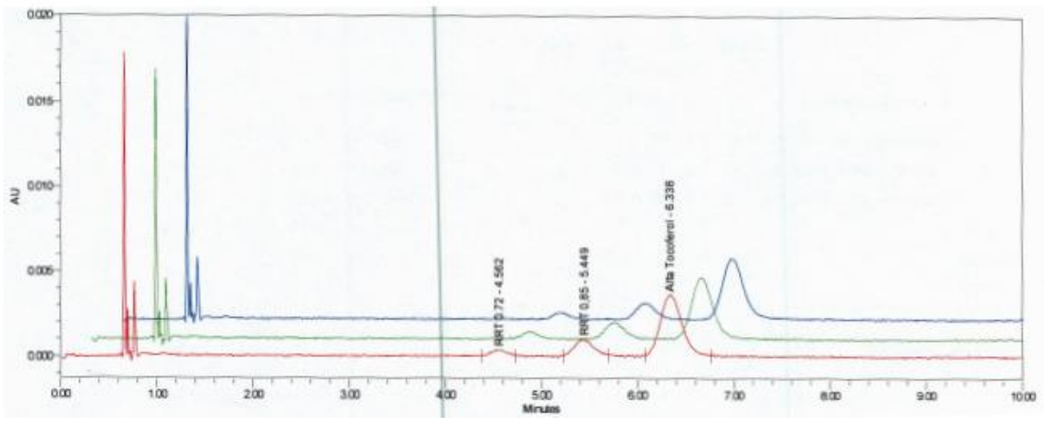


Figura 3-3.9. Cromatograma Solución MTA 100% con inyección 30 µL.

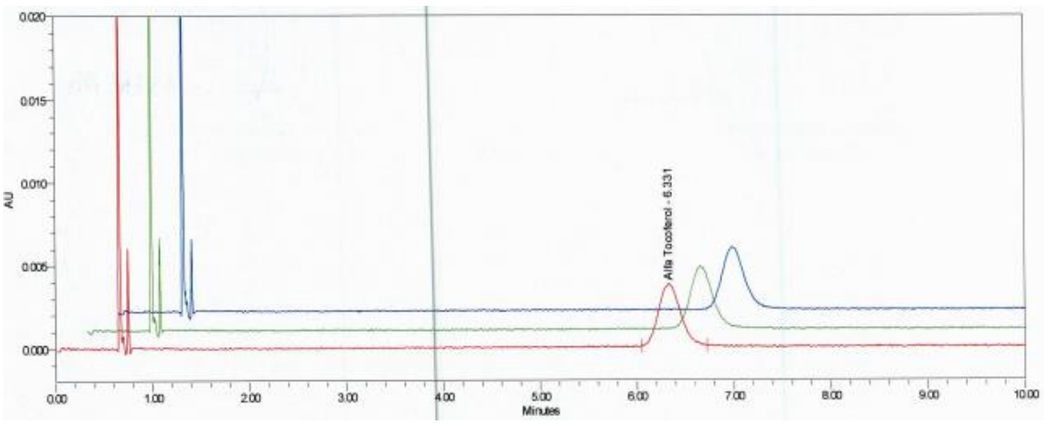


Figura 3-3.10. Cromatograma Solución STD 100% con inyección 30 µL.

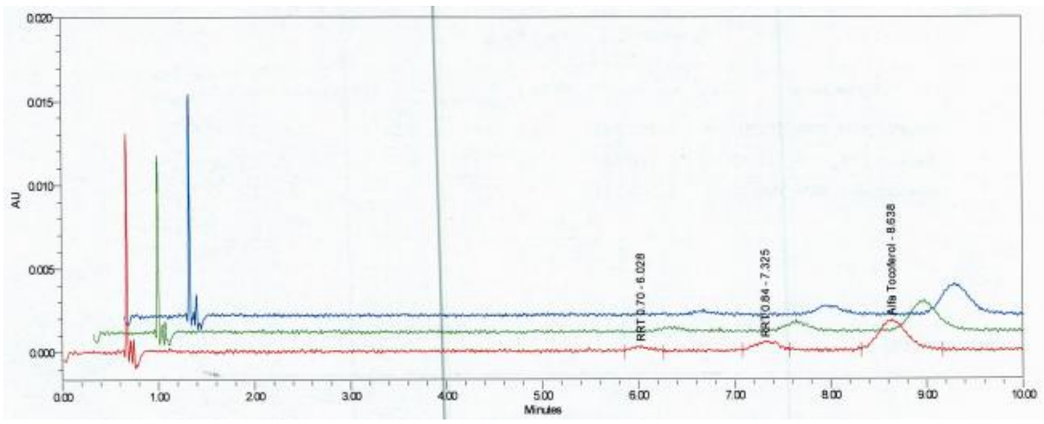


Figura 3-3.11. Cromatograma Solución MTA 100% con Columna a 15°C.

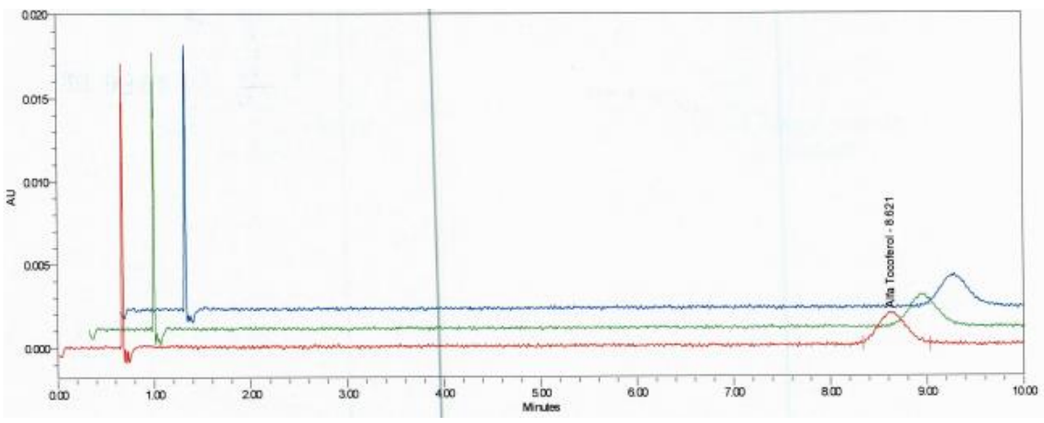


Figura 3-3.12. Cromatograma Solución STD 100% con Columna a 15°C.

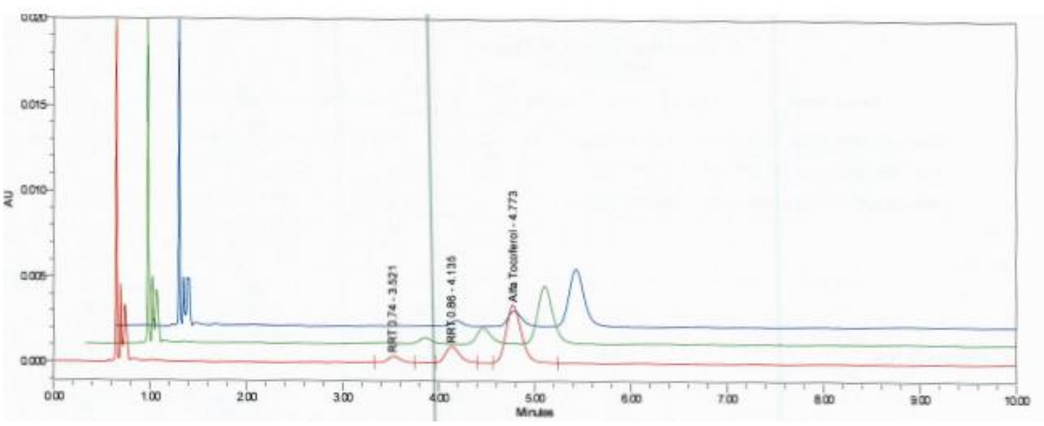


Figura 3-3.13. Cromatograma Solución MTA 100% con Columna a 35°C.

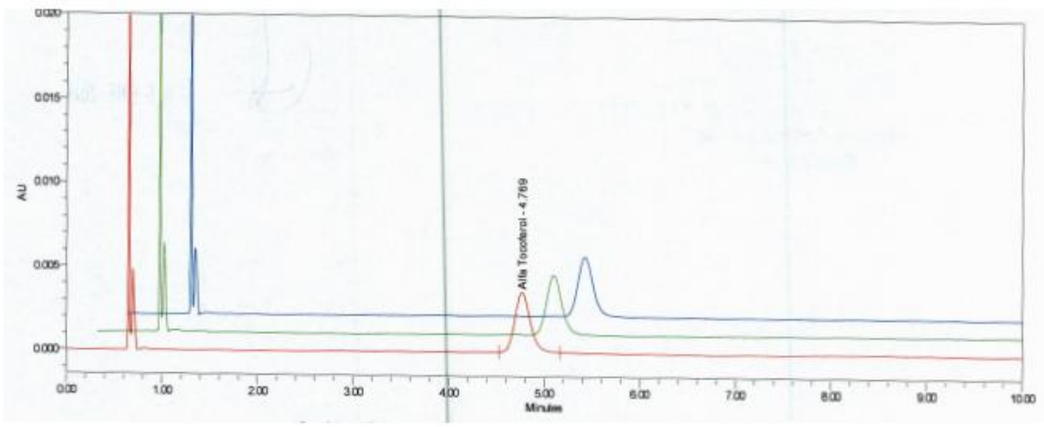


Figura 3-3.14. Cromatograma Solución STD 100% con Columna a 35°C.

3.4. LINEALIDAD

La linealidad se evalúa con dos ensayos, los cuales son la linealidad del Método y la linealidad del sistema.

3.4.1 Linealidad del Método

Para la linealidad del método se logran determinar los parámetros requeridos para la aceptación de la prueba, determinando que el método logra tener un comportamiento lineal en el rango estudiado. (Ver Tabla 3-4.1).

Tabla 3-4.1. Resultados Linealidad del Método.

Muestra (%)	Concentración Teórica (mg/L)	Área	Área Promedio	Coeficiente de Variación CV (%)
50	97,50 97,50 97,50	17475 17534 17182	17397	1,09
80	156,00 156,00 156,00	28047 28733 27758	28179	1,78
100	195,00 195,00 195,00	35241 35041 35227	35170	0,32
120	234,00 234,00 234,00	41772 42195 41500	41822	0,84
150	292,50 292,50 292,50	52342 53999 52535	52958	1,71
Coeficiente de Correlación (r = 0,990)			0,9999	
Coeficiente de Determinación (r^2 =0,980)			0,9997	
Pendiente (b)			2E+02	
Ordenada (a)			-255,32	
Coeficiente Variación global (CV% = 2,0)			1,15	
C de Cochran (C_{tabla} = 0,68)			0,66	

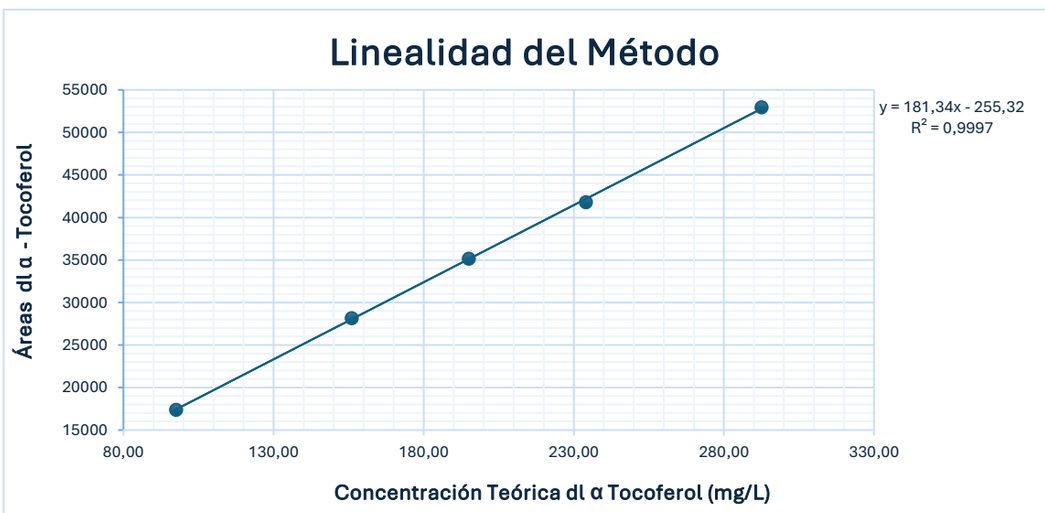


Gráfico 3-4.1. Área V/S Concentración dl α-Tocoferol.

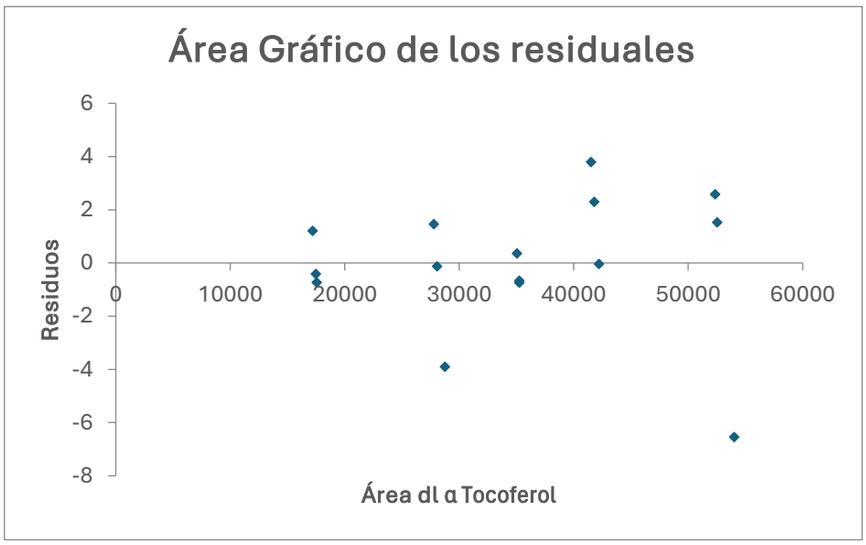


Gráfico 3-4.2. Residuos de Linealidad del Método.

Como evidencia de la Linealidad del método, se muestra a continuación los cromatogramas de las soluciones inyectadas para este test, donde se puede observar que se presentan dos señales diferentes al analito, las cuales no interfieren en la cuantificación y serán identificadas con el RRT respecto al API dl α- Tocoferol. (ver Figuras 3-4.1 a 3-4.5).

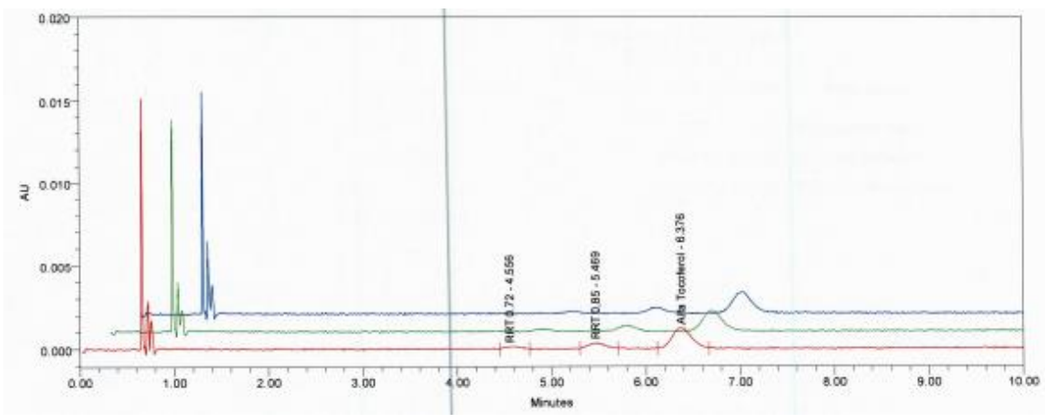


Figura 3-4.1. Cromatograma Linealidad Método – MTA 50%.

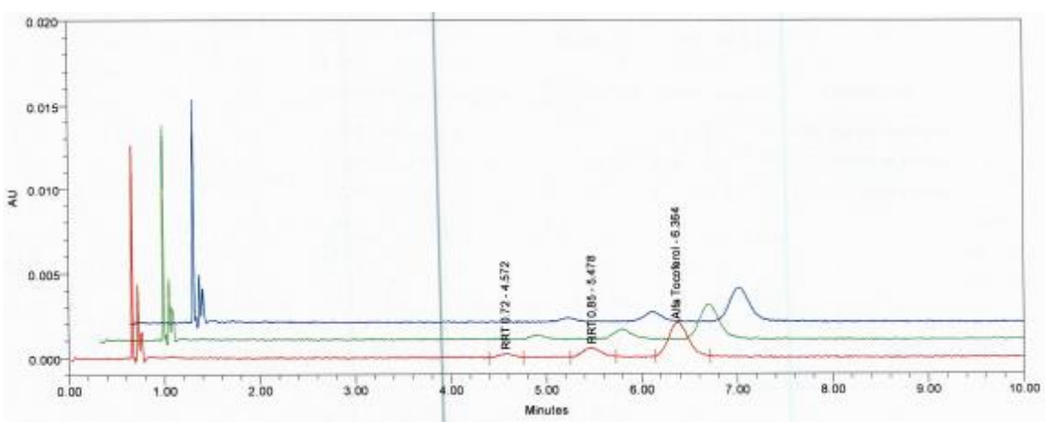


Figura 3-4.2. Cromatograma Linealidad Método – MTA 80%.

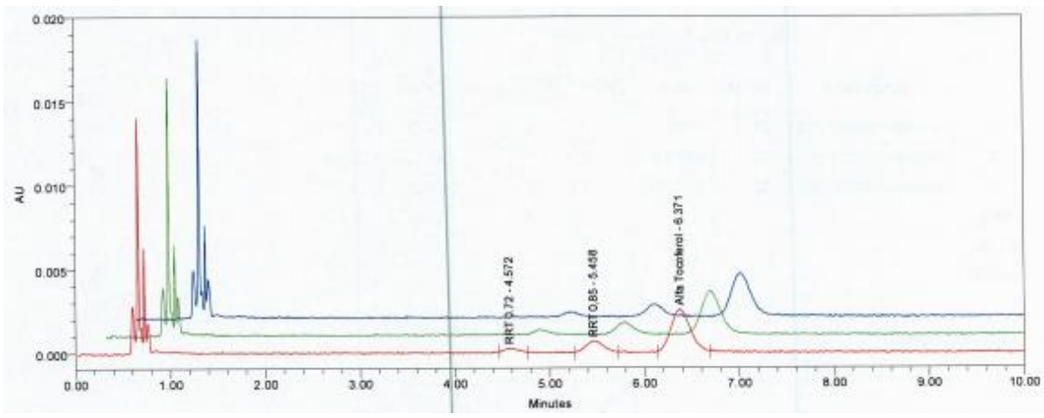


Figura 3-4.3. Cromatograma Linealidad Método – MTA 100%.

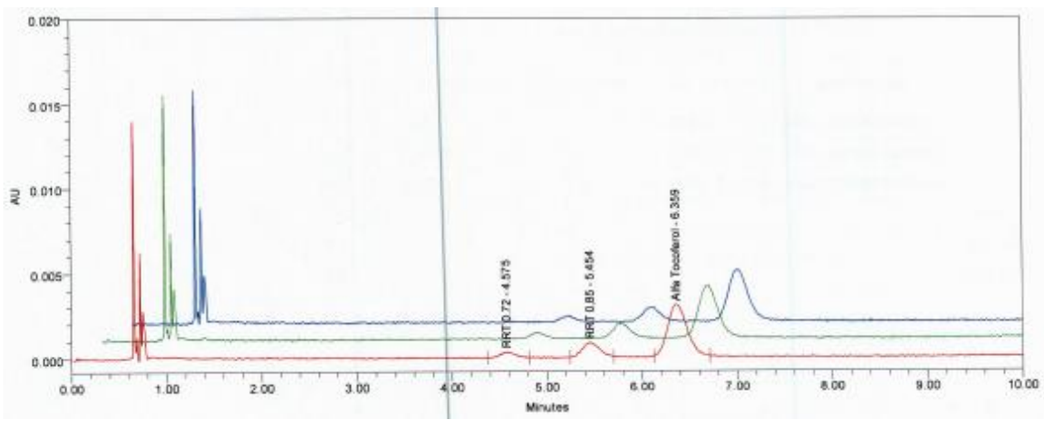


Figura 3-4.4. Cromatograma Linealidad Método – MTA 120%.

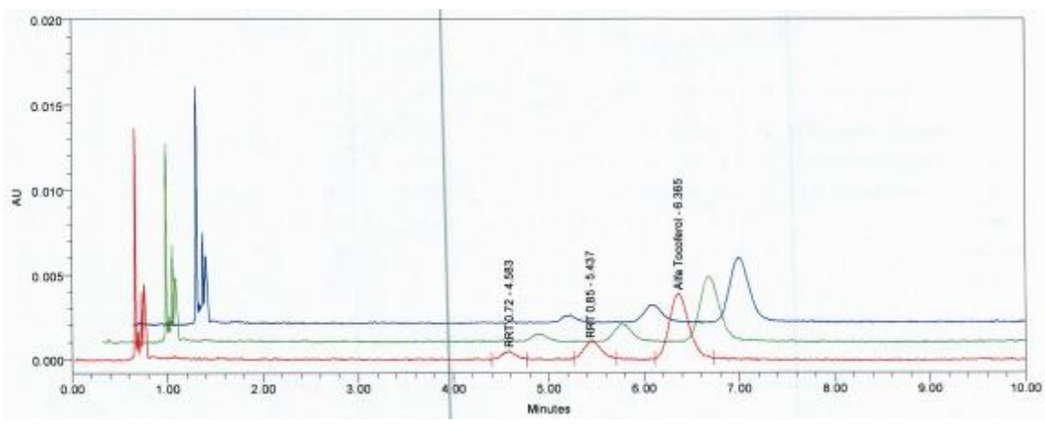


Figura 3-4.5. Cromatograma Linealidad Método – MTA 150%.

3.4.2 Linealidad del Sistema

La linealidad del sistema se logran determinar los parámetros requeridos para la aceptación de la prueba, determinando que el método logra tener un comportamiento lineal en el rango estudiado sin la influencia de la matriz. (Ver tabla 3-4.2).

Tabla 3-4.2. Resultados Linealidad del Sistema.

Muestra (%)	Concentración Teórica (mg/L)	Área	Área Promedio	Coeficiente de Variación CV (%)
50	97,50 97,50 97,50	17342 17602 17620	17521	0,89
80	156,00 156,00 156,00	29808 29327 30050	29728	1,24
100	195,00 195,00 195,00	37126 38462 37674	37754	1,78
120	234,00 234,00 234,00	45561 45373 46118	45684	0,85
150	292,50 292,50 292,50	57577 57651 58934	58054	1,31
Coeficiente de Correlación (r = 0,990)			0,9995	
Coeficiente de Determinación (r^2= 0,980)			0,9990	
Pendiente (b)			2E+02	
Ordenada (a)			-2696,11	
Coeficiente Variación global (CV%= 2,0%)			1,21	
C de Cochran (C_{tabla} = 0,68)			0,43	

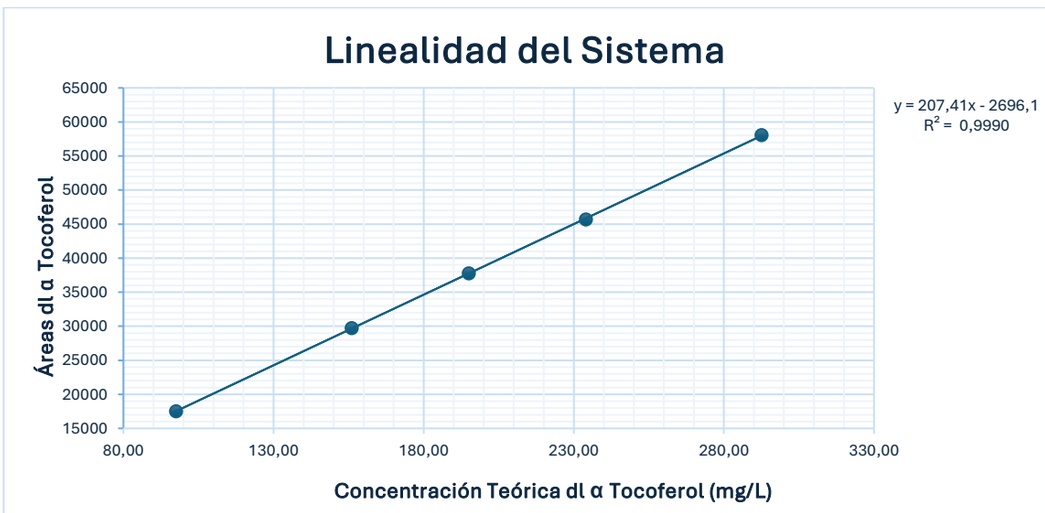


Gráfico 3-4.3. Áreas V/S Concentración α-Tocoferol.

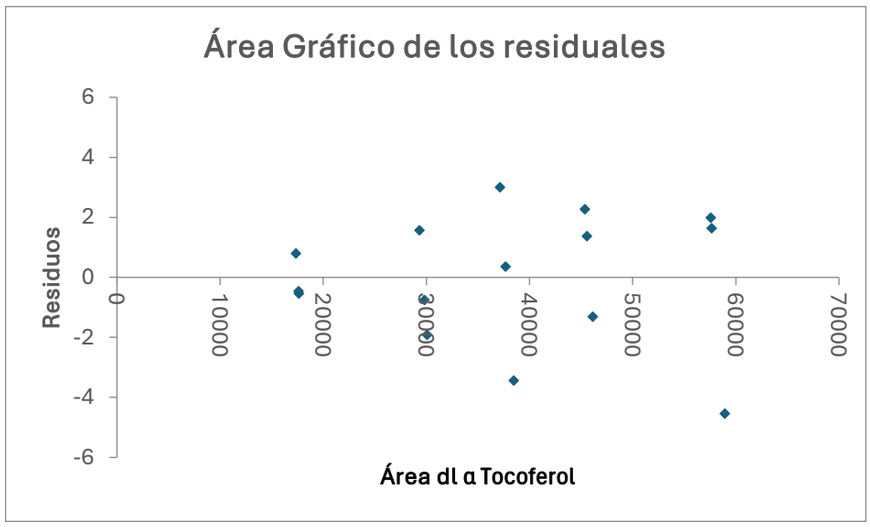


Gráfico 3-4.4. Residuos de Linealidad del Sistema.

Como evidencia de la Linealidad del sistema, se muestra a continuación los cromatogramas de las soluciones inyectadas para este test, donde se puede observar que se presentan solo la señal del analito, API dl α- Tocoferol. (ver Figuras 3-4.6 a 3-4.10).

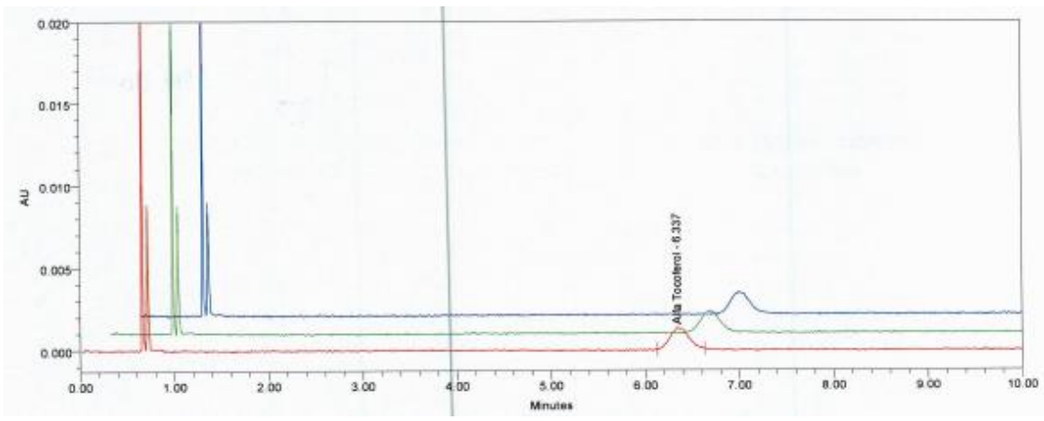


Figura 3-4.6. Cromatograma Linealidad Método – STD 50%.

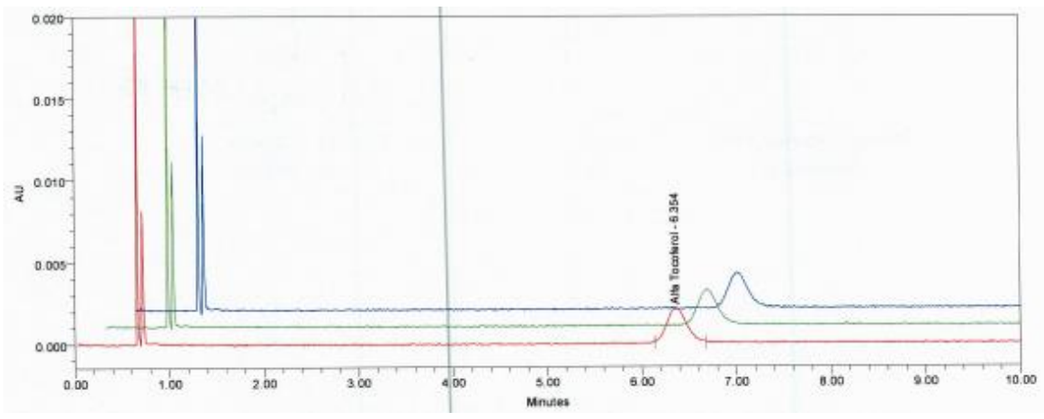


Figura 3-4.7. Cromatograma Linealidad Método – STD 80%.

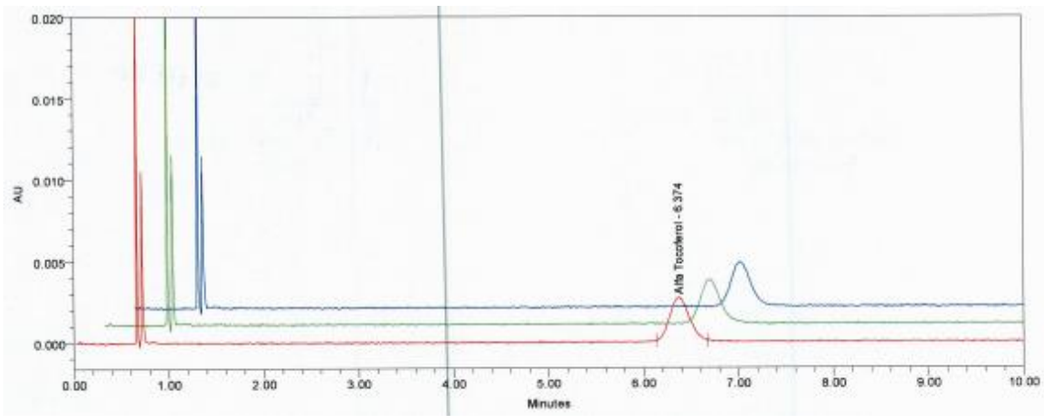


Figura 3-4.8. Cromatograma Linealidad Método – STD 100%.

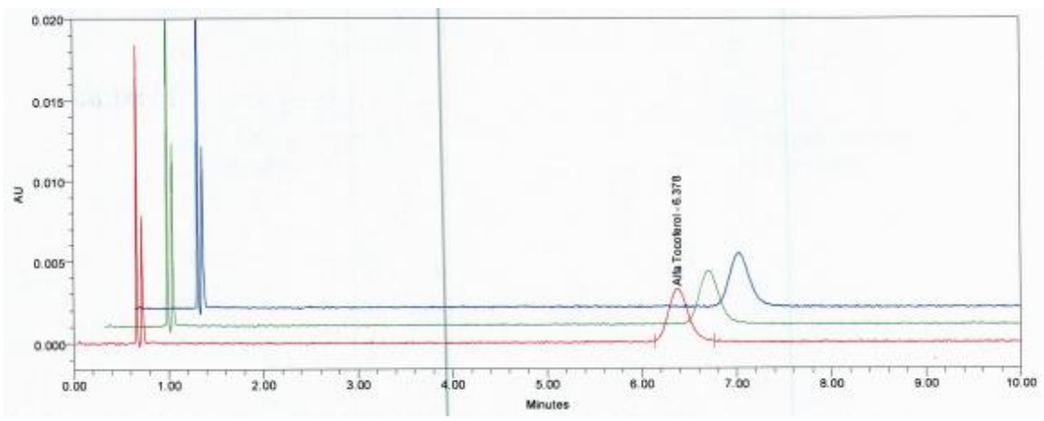


Figura 3-4.9. Cromatograma Linealidad Método – STD 120%.

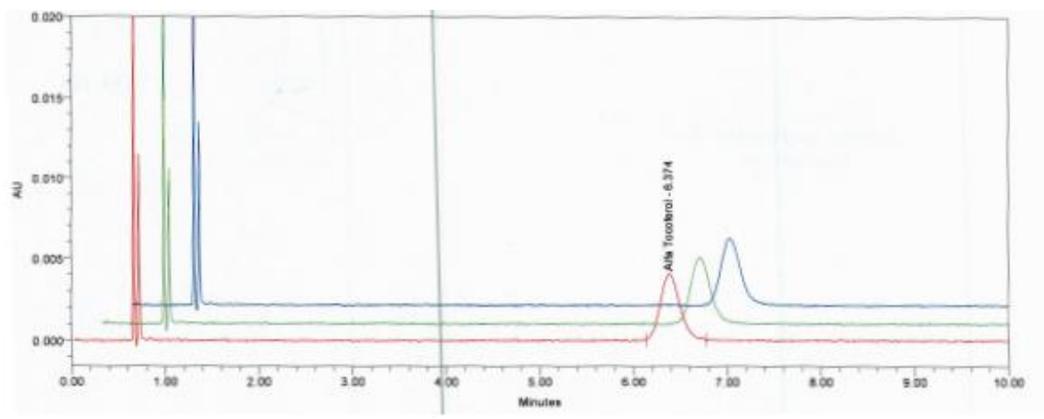


Figura 3-4.10. Cromatograma Linealidad Método – STD 150%.

3.5. LIMITE DE CUANTIFICACIÓN

El cuarto ensayo es un análisis para determinar el límite de cuantificación de la técnica, para aquello se plantea una curva de concentración decreciente, hasta obtener una concentración cuya S/N sea igual a 10. (Ver tabla 3-5.1). Donde la concentración detectada es de 48,75 mg/L de α- Tocoferol.

Si bien este test no es estrictamente necesario para la validación de un método de cuantificación de API, se estimó que podría ser de utilidad determinar este límite para futuras aplicaciones.

Tabla 3-5.1. Límite de cuantificación para α-Tocoferol.

Muestra (%)	Concentración Teórica (mg/L)	Área	Área Promedio	S/N
15	29,25 29,25 29,25	5287 5190 5660	5379	6
20	39,00 39,00 39,00	6117 6095 6668	6293	7
25	48,75 48,75 48,75	8738 8721 8242	8567	11
35	54,60 54,60 54,60	12169 11720 11835	11908	15
50	97,50 97,50 97,50	18391 19197 19054	18881	19
80	156,00 156,00 156,00	29520 29543 29641	29568	35
100	195,00 195,00 195,00	36868 36797 36290	36651	40
120	234,00 234,00 234,00	44088 43797 44407	44098	45
150	292,50 292,50 292,50	55138 54514 54979	54877	60

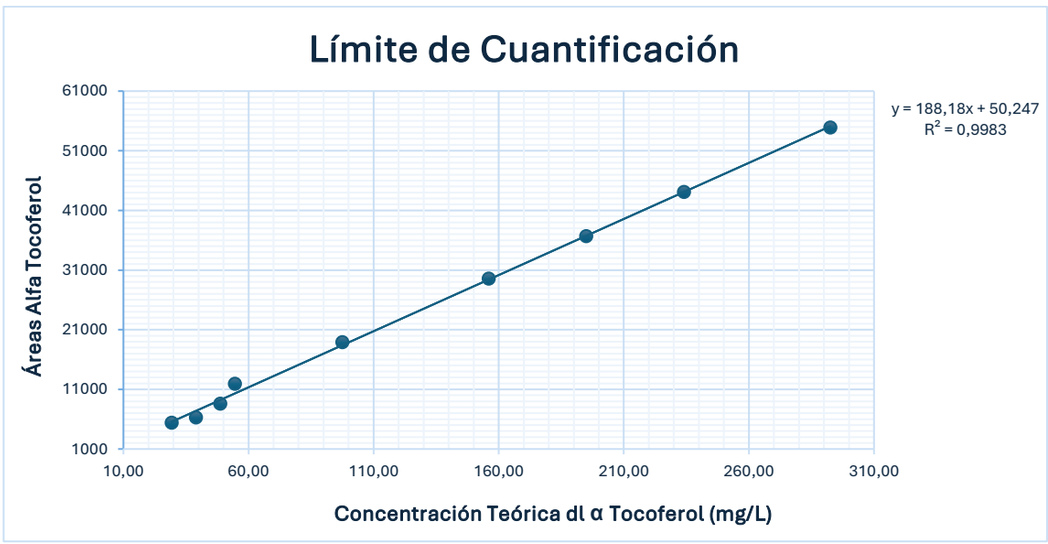


Gráfico 3-5.1. Áreas V/S Concentración α-Tocoferol.

Adicionalmente se realiza una comprobación del Límite de cuantificación donde se realizan inyecciones seriadas de una solución de concentración 48,75 mg/L, equivalente al 25% de la concentración nominal. (Ver tabla 3-5.2).

Tabla 3-5.2. Comprobación del Límite de Cuantificación.

Concentración (mg/L)	S/N
48,75	7
	10
	11
	9
	12
	11
Promedio	10

Como evidencia del Límite de cuantificación, se muestra a continuación los cromatogramas de las soluciones inyectadas para este test, donde se puede observar las inyecciones de la curva y la comprobación de la concentración indicada como LC (ver Figuras 3-5.1 a 3-5.10).

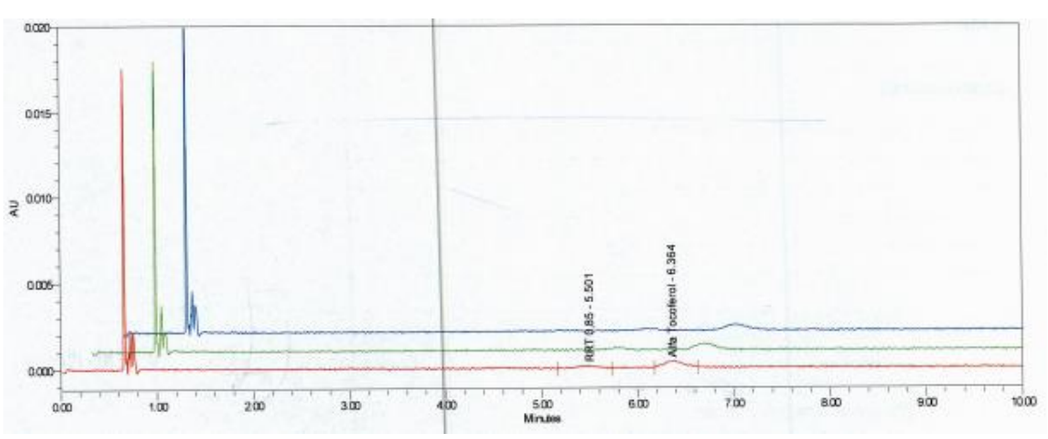


Figura 3-5.1. Cromatograma Curva LC – MTA 15%.

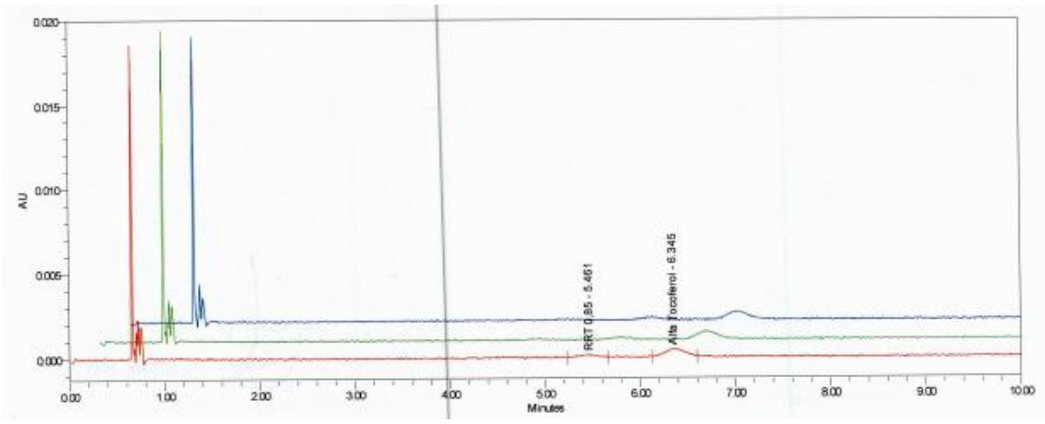


Figura 3-5.2. Cromatograma Curva LC – MTA 20%.

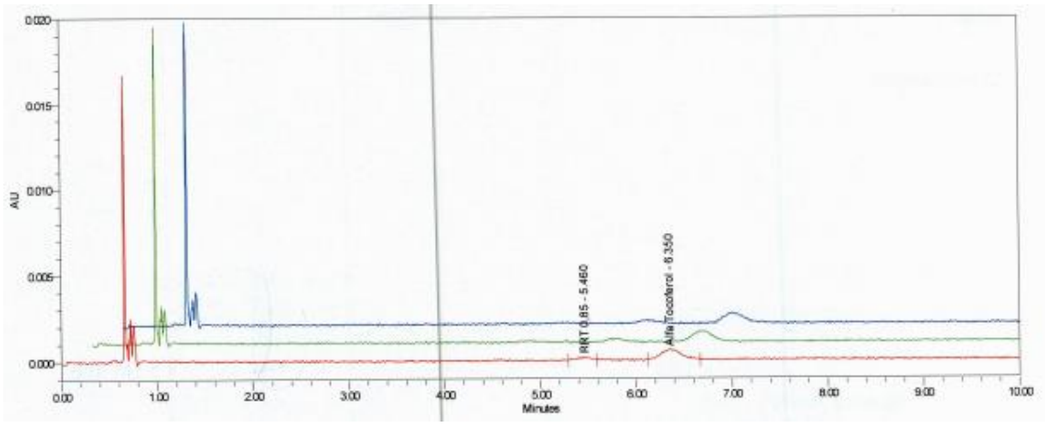


Figura 3-5.3. Cromatograma Curva LC – MTA 25%.

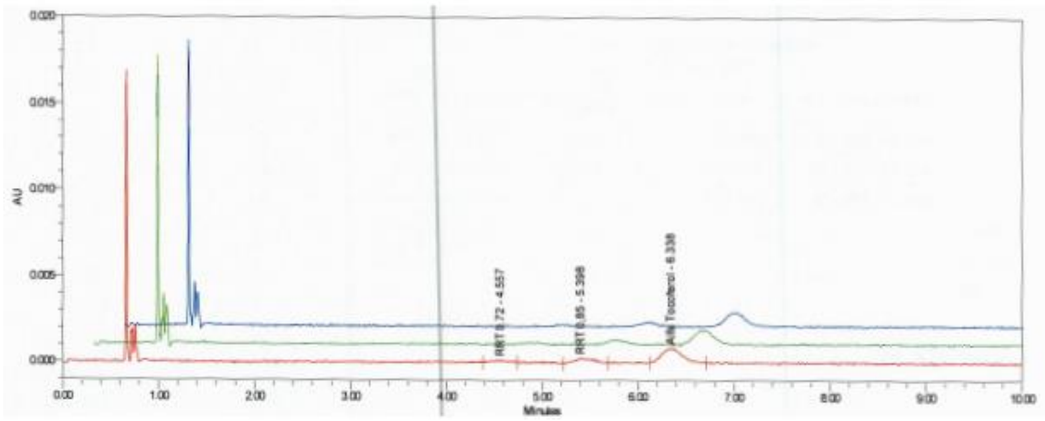


Figura 3-5.4. Cromatograma Curva LC – MTA 35%.

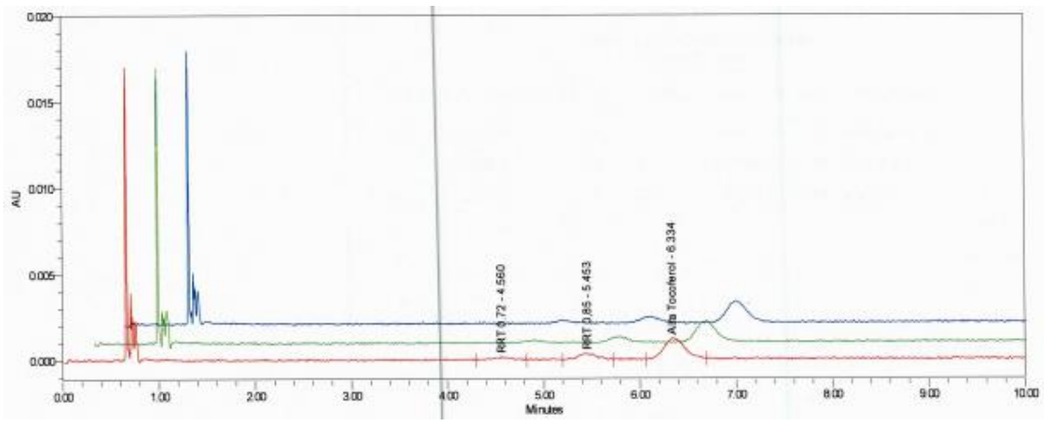


Figura 3-5.5. Cromatograma Curva LC – MTA 50%.

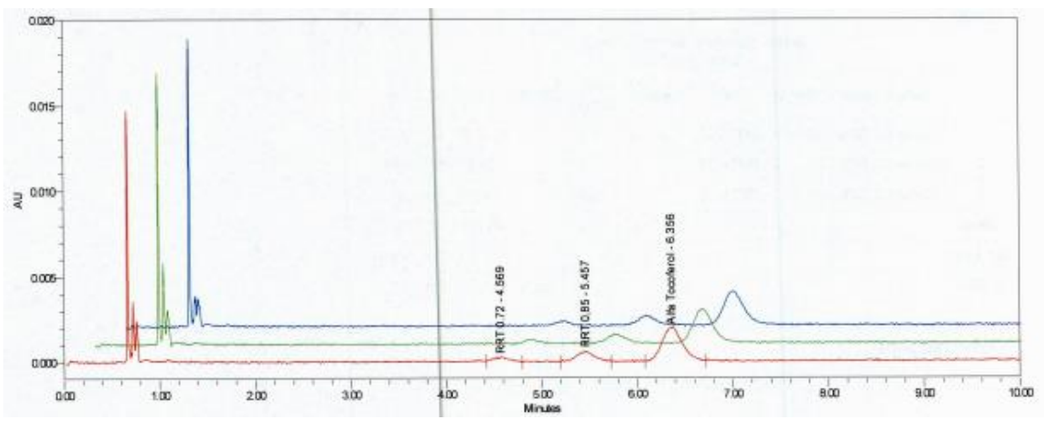


Figura 3-5.6. Cromatograma Curva LC – MTA 80%.

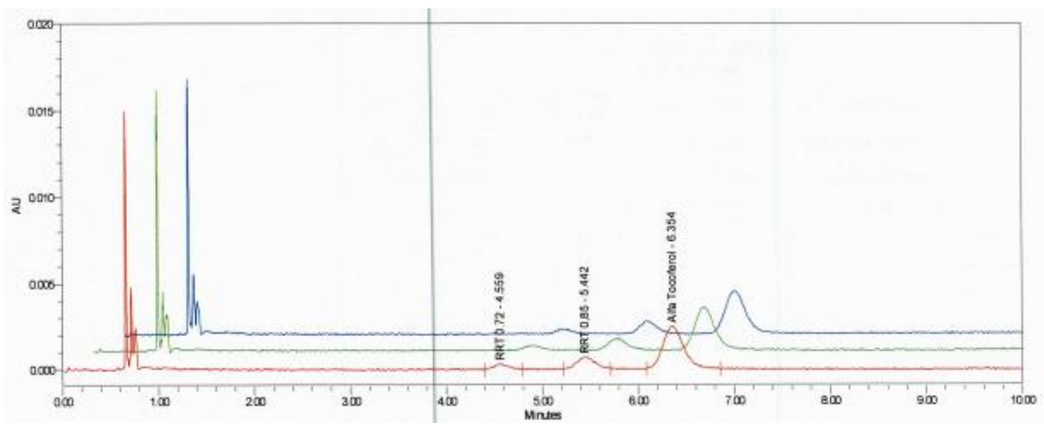


Figura 3-5.7. Cromatograma Curva LC – MTA 100%.

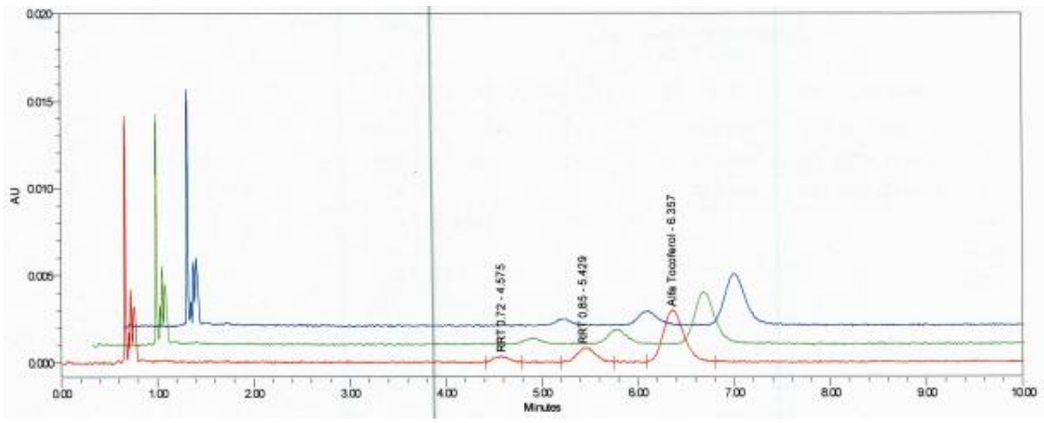


Figura 3-5.8. Cromatograma Curva LC – MTA 120%.

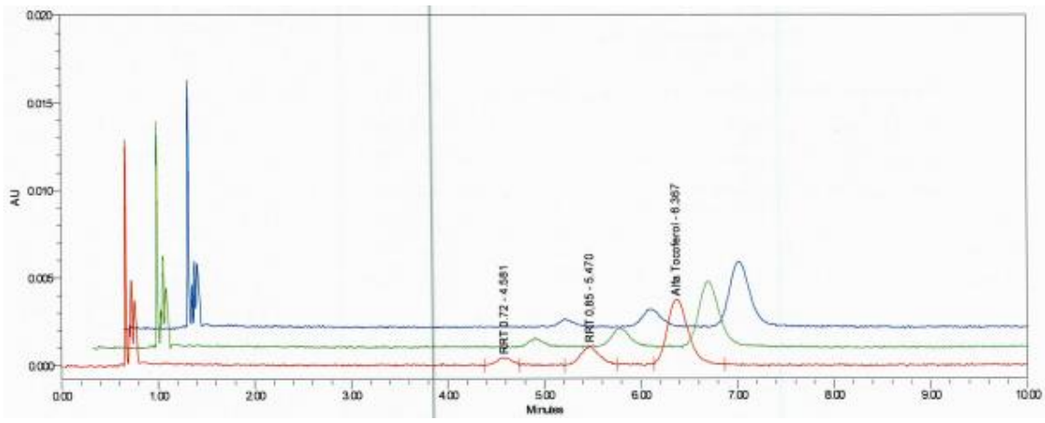


Figura 3-5.9. Cromatograma Curva LC – MTA 150%.

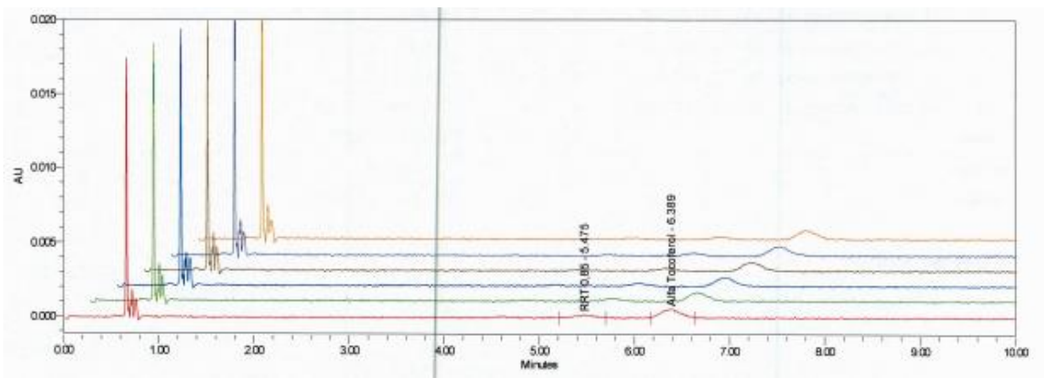


Figura 3-5.10. Cromatograma de comprobación LC – MTA 25%.

3.6. PRECISIÓN

3.6.1 Repetibilidad

La prueba de Repetibilidad logra cumplir con el parámetro de CV%, resultando en que las respuestas obtenidas por el método desafiado tienen la concordancia suficiente para el rango de concentración estipulado. (ver tabla 3-6.1).

Tabla 3-6.1. Resultados Repetibilidad.

Muestra (%)	Concentración Teórica (mg/L)	Área	Área Promedio	Coeficiente de Variación (CV%)	Coeficiente de Variación por Nivel (CV%)
50-1	97,50 97,50 97,50	16367 16324 16156	16282	0,68	1,11
50-2	97,50 97,50 97,50	16920 17079 17602	17200	2,07	
50-3	97,50 97,50 97,50	16855 16680 16698	16744	0,57	
100-1	195,00 195,00 195,00	35972 37109 36819	36633	1,61	1,55
100-2	195,00 195,00 195,00	36640 36655 35726	36341	1,46	
100-3	195,00 195,00 195,00	36886 35828 36000	36238	1,57	
150-1	292,50 292,50 292,50	56230 55158 54759	55382	1,37	0,83
150-2	292,50 292,50 292,50	56849 56605 55999	56484	0,77	
150-3	292,50 292,50 292,50	55673 55309 55623	55623	0,35	
Promedio Global CV% (3,7%)				1,16	

Como evidencia de la Repetibilidad, se muestra a continuación los cromatogramas de las soluciones inyectadas para este test, donde se puede observar que se presentan dos señales diferentes al analito, las cuales no interfieren en la cuantificación y serán identificadas con el RRT respecto al API dl α- Tocoferol. (ver Figuras 3-6.1 a 3-6.9).

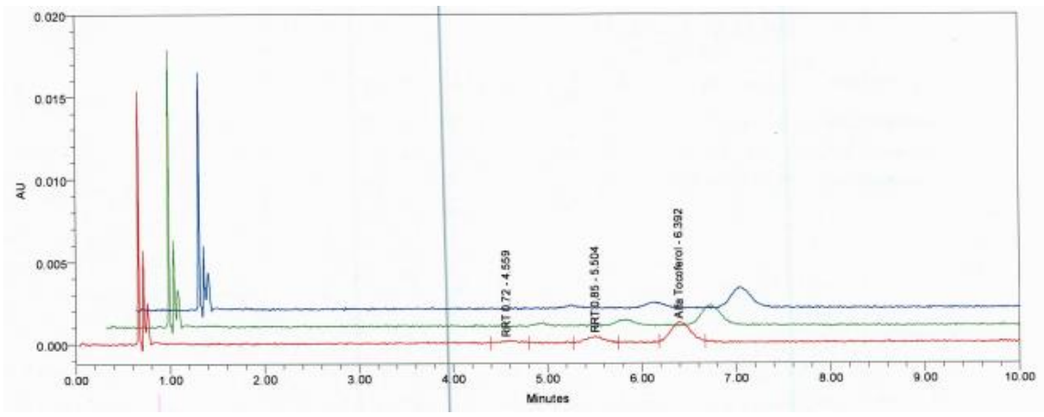


Figura 3-6.1. Cromatograma Repetibilidad – MTA (1) 50%.

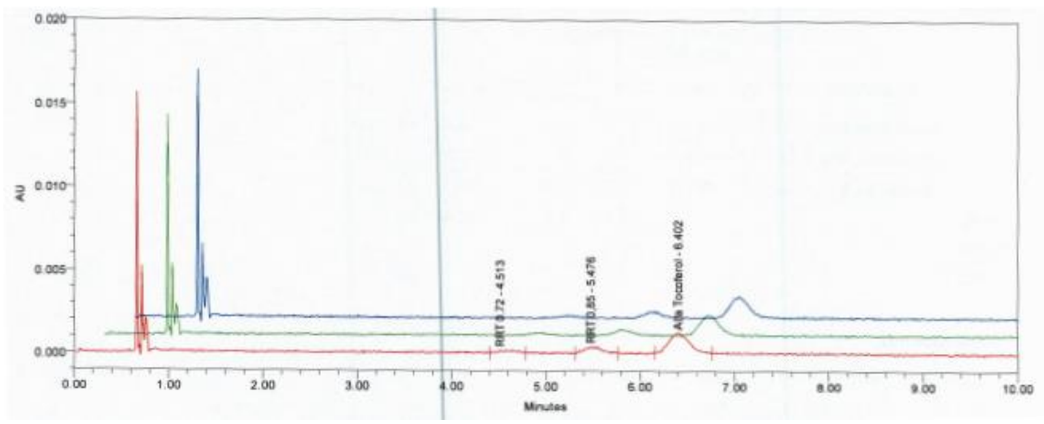


Figura 3-6.2. Cromatograma Repetibilidad – MTA (2) 50%.

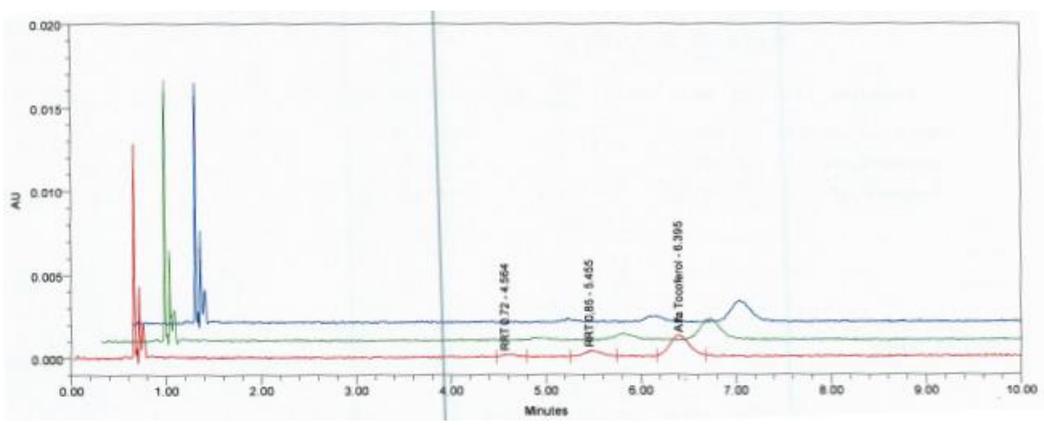


Figura 3-6.3. Cromatograma Repetibilidad – MTA (3) 50%.

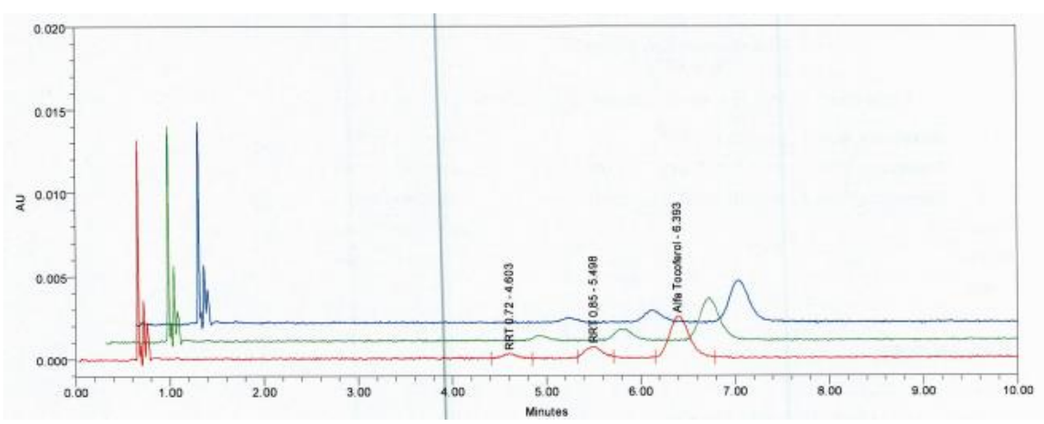


Figura 3-6.4. Cromatograma Repetibilidad – MTA (1) 100%.

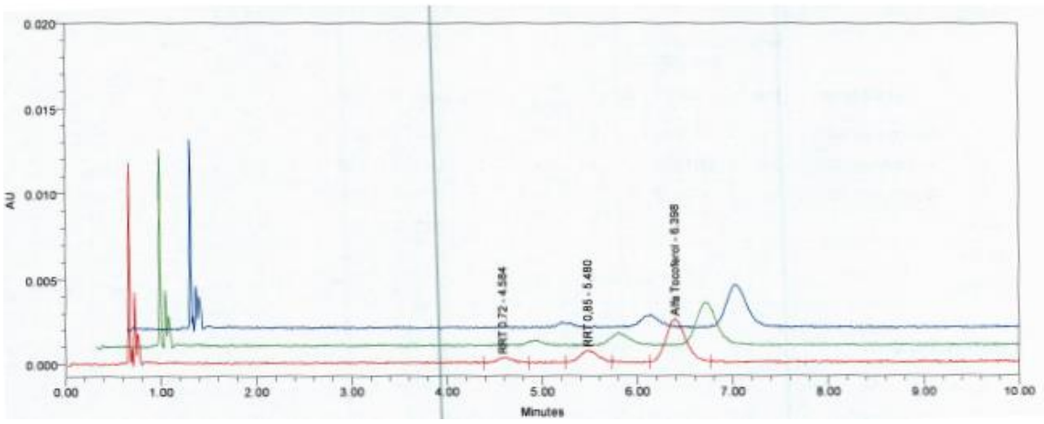


Figura 3-6.5. Cromatograma Repetibilidad – MTA (2) 100%.

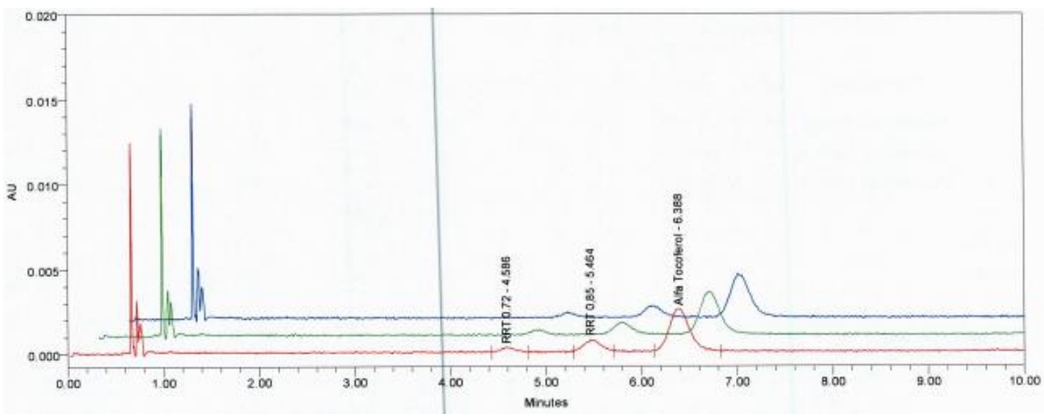


Figura 3-6.6. Cromatograma Repetibilidad – MTA (3) 100%.

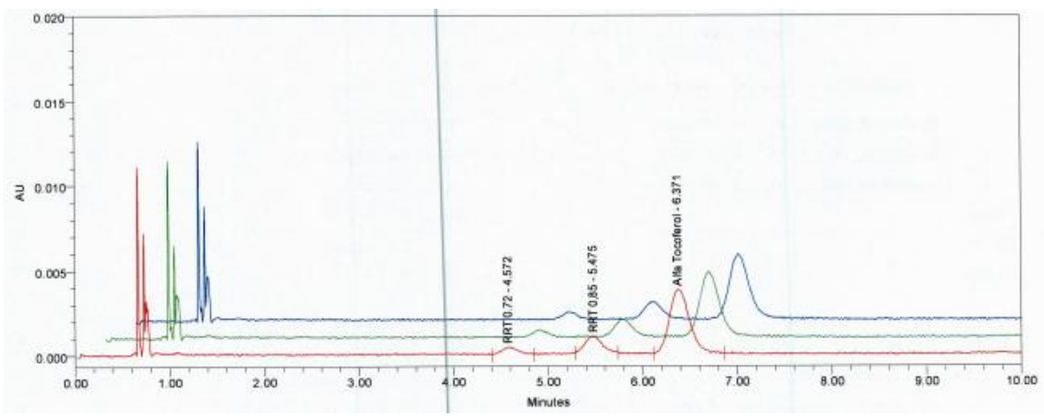


Figura 3-6.7. Cromatograma Repetibilidad – MTA (1) 150%.

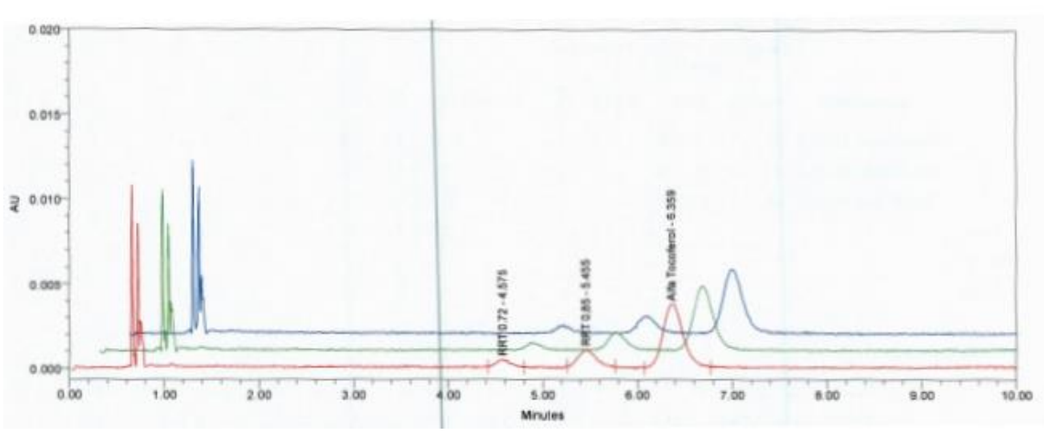


Figura 3-6.8. Cromatograma Repetibilidad – MTA (2) 150%.

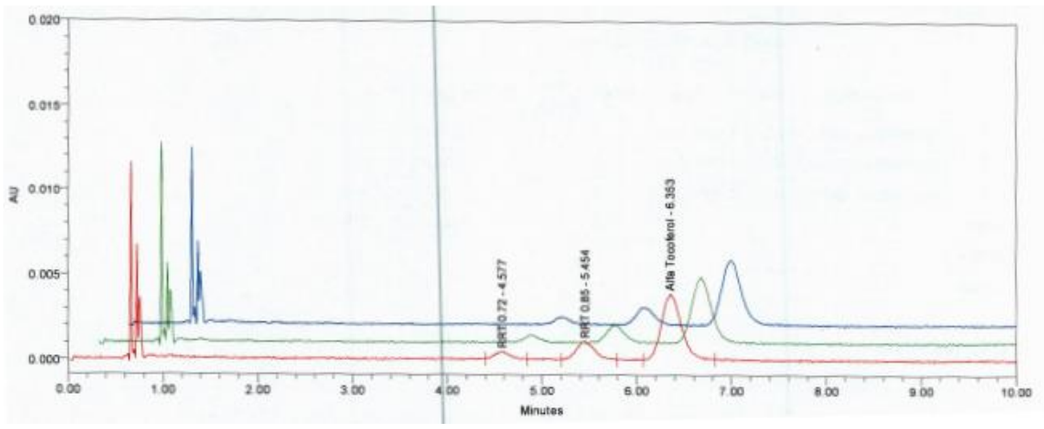


Figura 3-6.9. Cromatograma Repetibilidad – MTA (3) 150%.

3.6.2 Precisión del Sistema

Para este test se evaluó el CV% de los tiempos de retención, obteniendo un resultado satisfactorio (Ver Tabla 3-6.2).

Tabla 3-6.2. Resultados Precisión del sistema.

Muestra (%)	Concentración Teórica (mg/mL)	RT (min)	RT Promedios	Coeficiente de Variación (CV%)	Promedio Coeficiente Variación (CV%)
50-1	97,50 97,50 97,50	6,4 6,4 6,4	6,4	0,2	0,1
50-2	97,50 97,50 97,50	6,4 6,4 6,4	6,4	0,1	
50-3	97,50 97,50 97,50	6,4 6,4 6,4	6,4	0,1	
100-1	195,00 195,00 195,00	6,4 6,4 6,4	6,4	0,1	0,2
100-2	195,00 195,00 195,00	6,4 6,4 6,4	6,4	0,2	
100-3	195,00 195,00 195,00	6,4 6,4 6,4	6,4	0,2	
150-1	292,50 292,50 292,50	6,4 6,4 6,4	6,4	0,1	0,1
150-2	292,50 292,50 292,50	6,4 6,4 6,4	6,4	0,1	
150-3	292,50 292,50 292,50	6,4 6,4 6,4	6,4	0,0	
Promedio Global CV% (1%)				0,1	

3.6.3 Precisión Intermedia

La precisión intermedia evalúa la concordancia de las respuestas obtenidas en condiciones diferentes, para aquello se realiza un t de student para verificar que no existen diferencias significativas entre los resultados entregados por los dos analistas en días diferentes. (Ver Tabla 3-6.3)

Tabla 3-6.3. Resultados Precisión Intermedia.

Muestra (%)	Día 1		Día 2	
	Área [(1)]	Área [(2)]	Área [(1)]	Área [(2)]
50	16367 16324 16156	16890 17537 17563	17707 17294 17585	16771 16758 16283
Área Promedio	16282	17330	17529	16604
CV Área (%)	0,68	2,20	1,21	1,67
CV promedio	1,44			
100	35972 37109 36819	37096 36039 36520	34593 35896 35631	36056 35510 34833
Área Promedio	36633	36552	35373	35466
CV Área (%)	1,61	1,45	1,95	1,73
CV promedio	1,69			
150	56230 55158 54759	57812 57750 57350	55013 54438 54604	55561 53905 54206
Área Promedio	55382	57637	54685	54557
CV Área (%)	1,37	0,44	0,54	1,62
CV promedio	0,99			

T de student (T_{tabla} = 1,86)	1,18
CV Global (3,7%)	1,37

[(1)] Analista 1, datos correspondientes al ejecutor de la validación.

[(2)] Analista 2, datos correspondientes a un analista del área de control de calidad (rutina).

Como evidencia de la Precisión Intermedia, se muestra a continuación los cromatogramas de las soluciones inyectadas para este test. (ver Figuras 3-6.10 a 3-6.18).

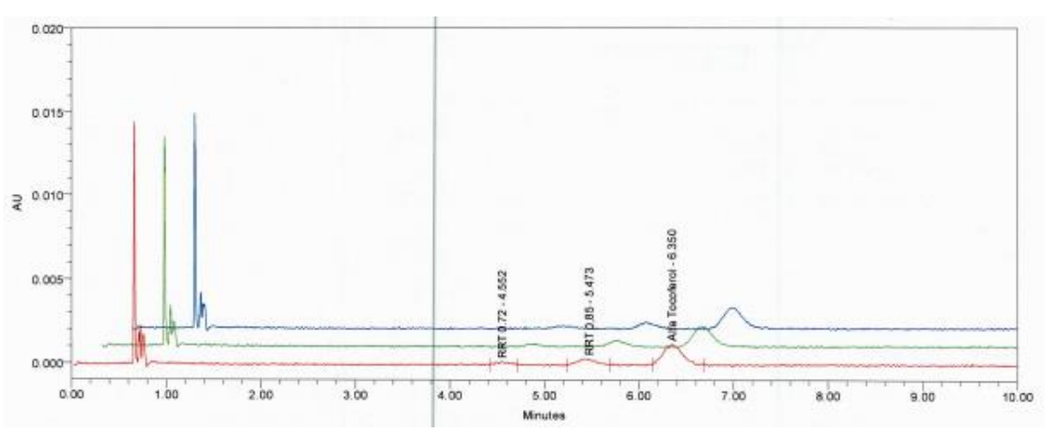


Figura 3-6.10. Cromatograma PI (A2D1) - 50%.

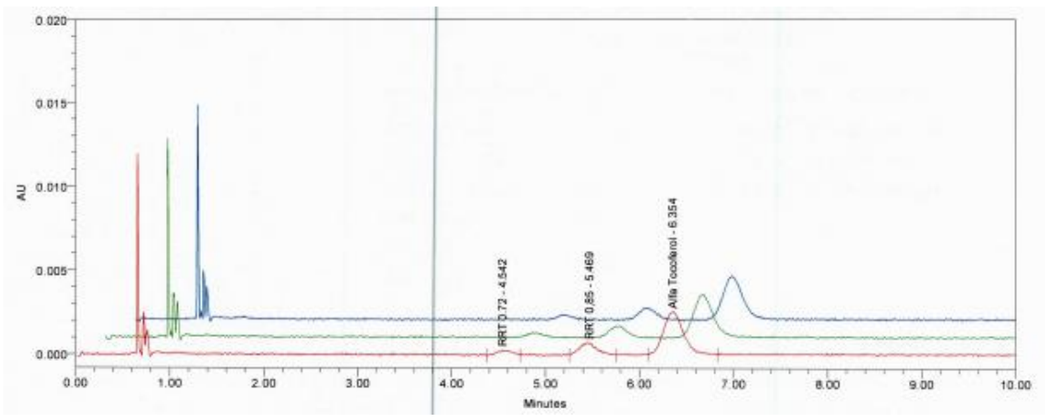


Figura 3-6.11. Cromatograma PI (A2D1) - 100%.

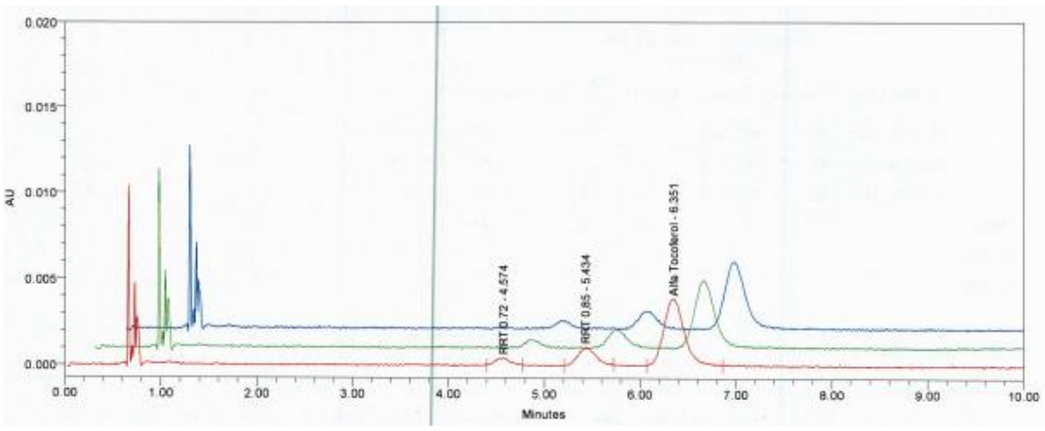


Figura 3-6.12. Cromatograma PI (A2D1) - 150%.

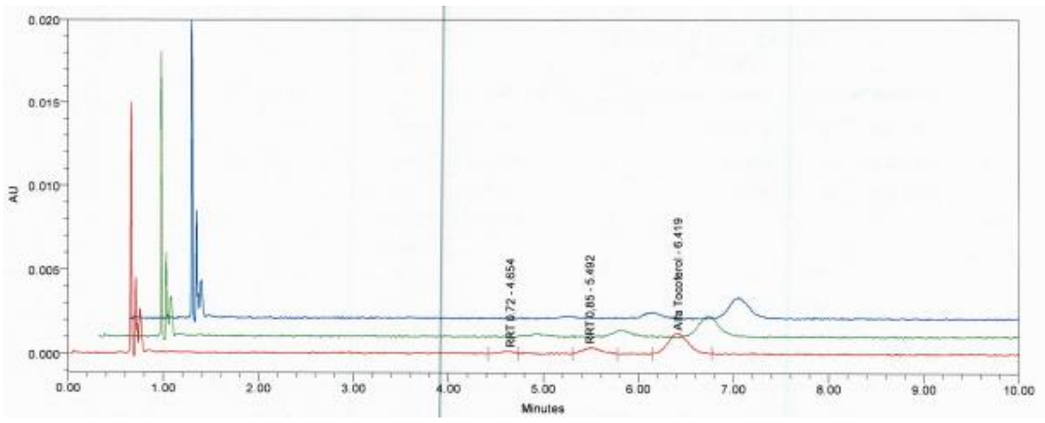


Figura 3-6.13. Cromatograma PI (A1D2) - 50%.

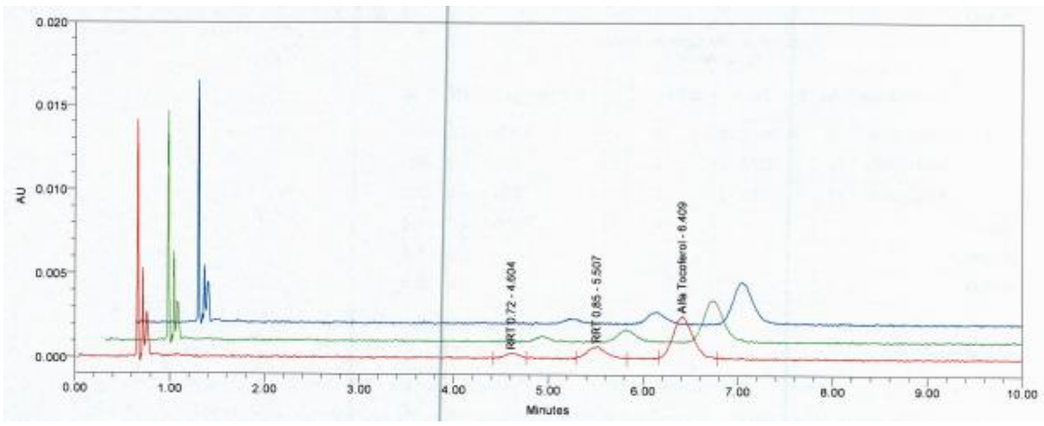


Figura 3-6.14. Cromatograma PI (A1D2) - 100%.

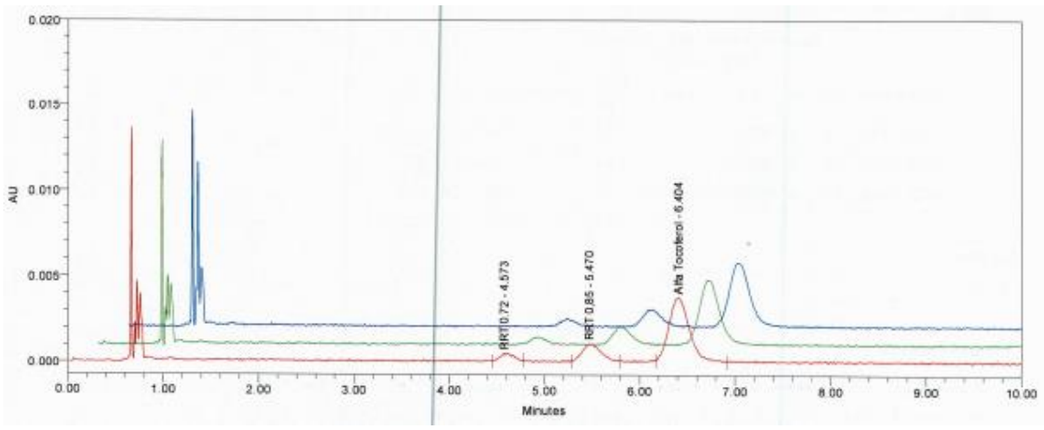


Figura 3-6.15. Cromatograma PI (A1D2) - 150%.

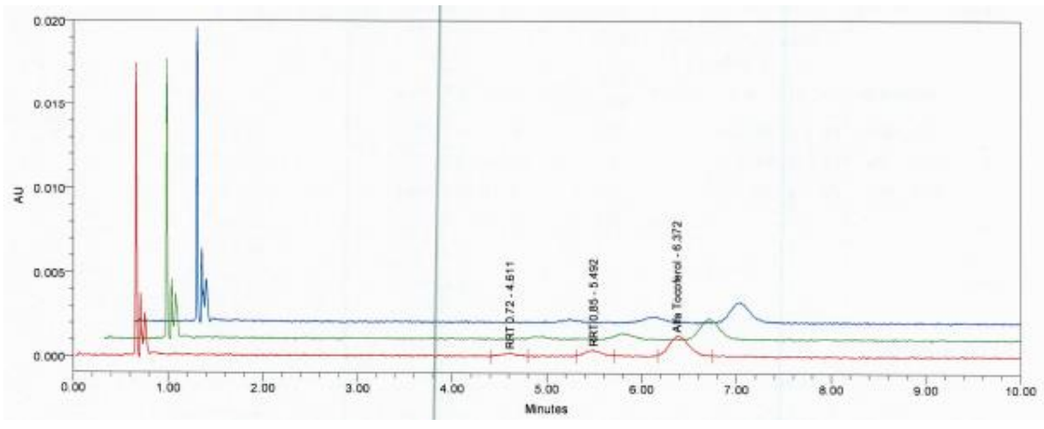


Figura 3-6.16. Cromatograma PI (A2D2) - 50%.

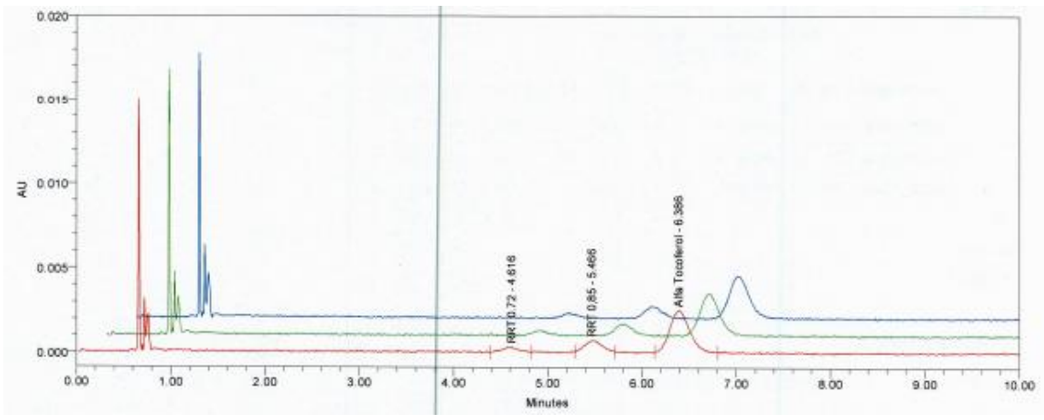


Figura 3-6.17. Cromatograma PI (A2D2) - 100%.

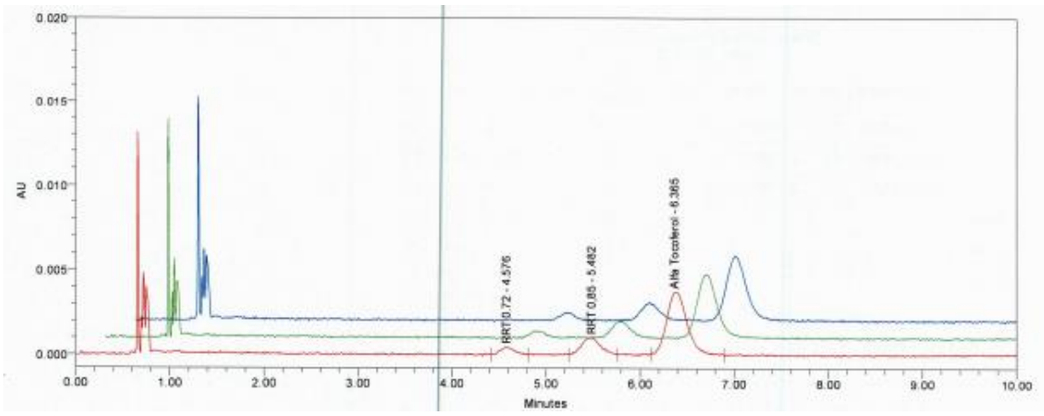


Figura 3-6.18. Cromatograma PI (A2D2) - 150%.

3.7. EXACTITUD

Se evalúa en este test la capacidad del método desafiado, a obtener la respuesta deseada al ser cargado con una concentración conocida de API, esta logra cumplir con los requerimientos de aceptación, que son recuperación del analito y CV% entre los resultados. (Ver Tabla 3-7.1 y 3-7.2).

Como se puede observar, las recuperaciones por nivel son cercanas al 100% del analito cargado como concentración teórica, esto es porque, para efectos del cálculo se ha tomado como un 100% la concentración del nivel requerido. (Ver Tabla 3-7.2). Con respecto a la cuantificación, se inyectan soluciones estándares entre las inyecciones de muestra para que sea lo más representativo posible, eliminando posibles interferencias, como por ejemplo, el factor del tiempo entre que se prepara la solución y la inyección de la misma, con este método se procura que la cuantificación con estándar inyectado sea lo más cercano posible al tiempo de inyección de la muestra, manteniéndose relativamente cercanos, en este caso, los tiempos de análisis individuales.

Tabla 3-7.1. Respuestas de la Exactitud.

Muestra (%)	Área estándar	Área Promedio estándar	Área Muestras	Área Promedio Muestras	Concentración Experimental (mg/L)
100-1	40871 40797 40305	40658(1)	37816 37219 37260	37432	185
100-2	39921 39893 39942	39919(2)	37940 37164 37834	37646	189
100-3	39921 39893 39942	39919(2)	36867 36833 37207	36969	186
120-1	39690 39010 40436	39712(3)	43992 44321 44651	44321	224
120-2	39690 39010 40436	39712(3)	44473 43950 44934	44934	227
120-3	39037 39103 39748	39296(4)	44026 44142 44775	44315	227
150-1	39037 39103 39748	39296(4)	55116 56241 56766	56041	287
150-2	40935 39637 40524	40365(5)	57102 55972 55526	56200	280
150-3	40935 39637 40524	40365(5)	55994 56732 56554	56427	281

(1) Área promedio de STD (1), usado para cuantificación de MTA 100-1.

(2) Área promedio de STD (2), usado para cuantificación de MTA 100-2 y MTA 100-3.

(3) Área promedio de STD (3), usado para cuantificación de MTA 120-1 y MTA 120-2.

(4) Área promedio de STD (4), usado para cuantificación de MTA 120-3 y MTA 150-1.

(5) Área promedio de STD (5), usado para cuantificación de MTA 150-2 y MTA 150-3.

Tabla 3-7.2. Resultados Exactitud.

Muestra (%)	Concentración Teórica (mg/L)	Concentración Experimental (mg/L)	Recuperación (%)	Promedio Recuperación por nivel (%)	CV (%)
100-1	191	185	97	98	1,18
100-2	191	189	99		
100-3	191	186	97		
120-1	229	224	98	99	0,59
120-2	229	227	99		
120-3	229	227	99		
150-1	287	287	100	99	1,17
150-2	287	280	98		
150-3	287	281	98		
Promedio Global Recuperación (95 – 105%)				98%	
Promedio Global CV% (3,7)				0,6%	

Como evidencia de la Precisión Intermedia, se muestra a continuación los cromatogramas de las soluciones inyectadas para este test. (ver Figuras 3-7.1 a 3-7.14).

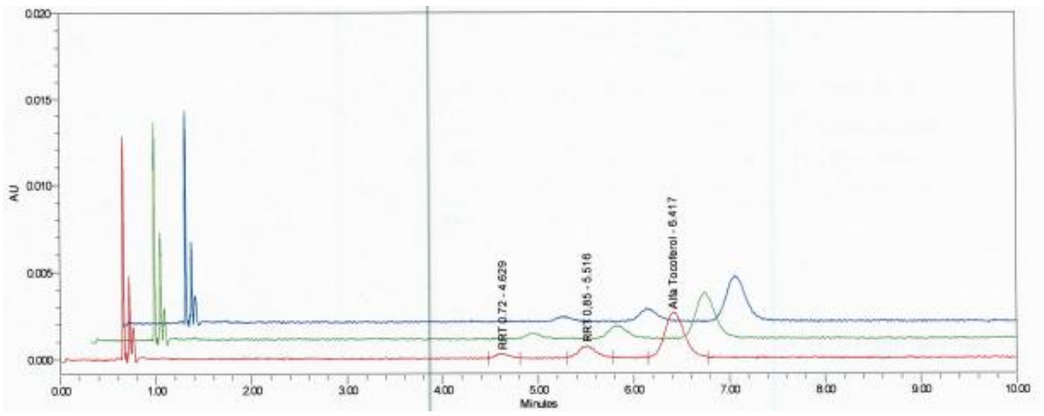


Figura 3-7.1. Cromatograma Exactitud MTA (1) - 100%.

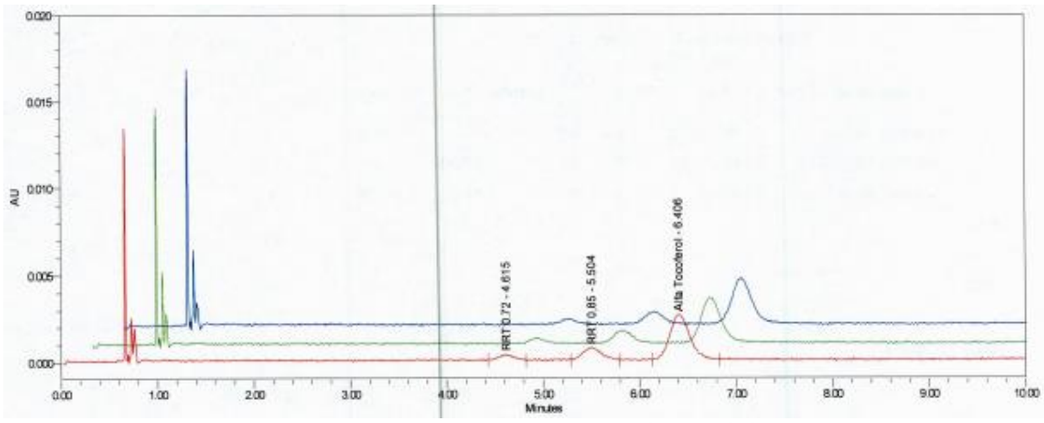


Figura 3-7.2. Cromatograma Exactitud MTA (2) - 100%.

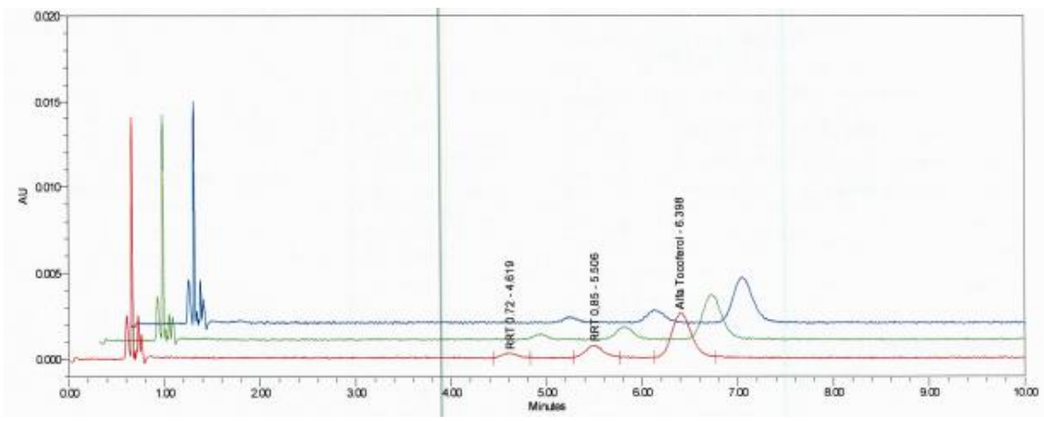


Figura 3-7.3. Cromatograma Exactitud MTA (3) - 100%.

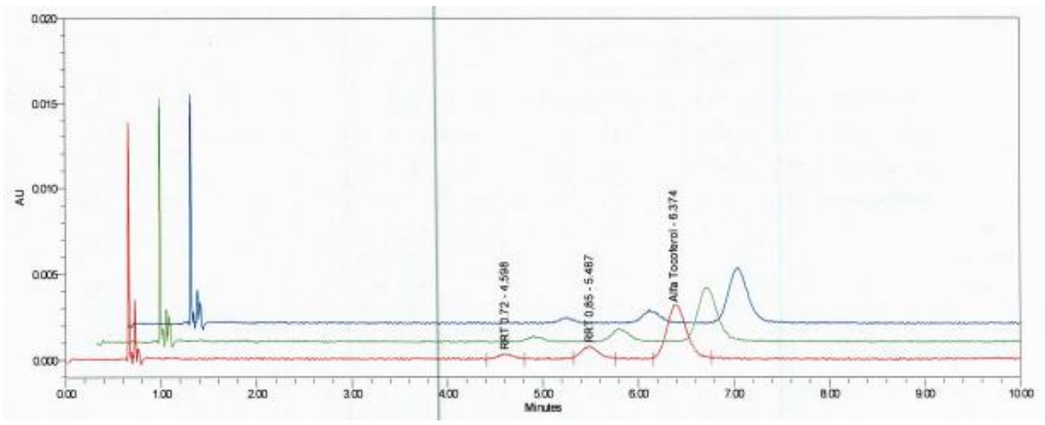


Figura 3-7.4. Cromatograma Exactitud MTA (1) - 120%.

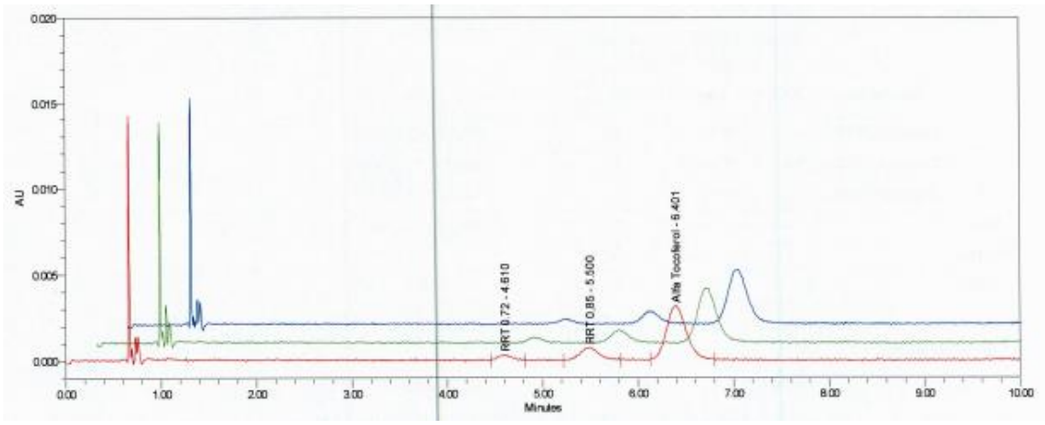


Figura 3-7.5. Cromatograma Exactitud MTA (2) - 120%.

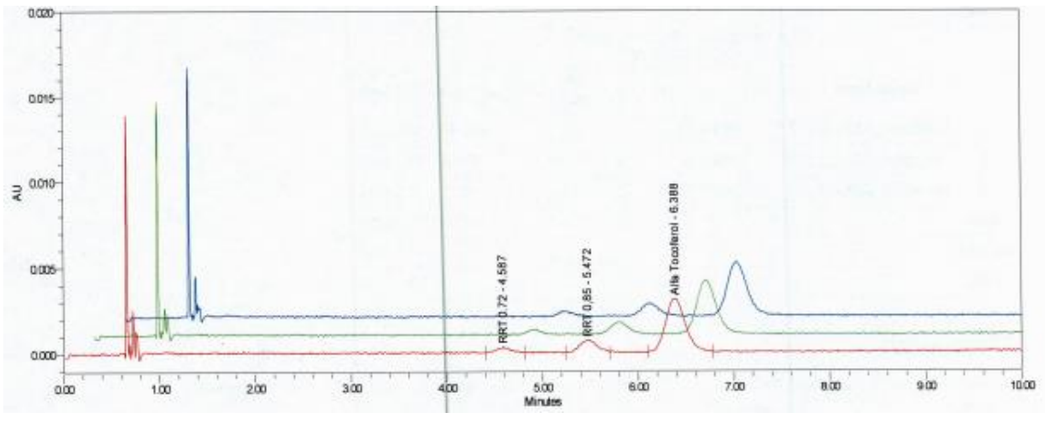


Figura 3-7.6. Cromatograma Exactitud MTA (3) - 120%.

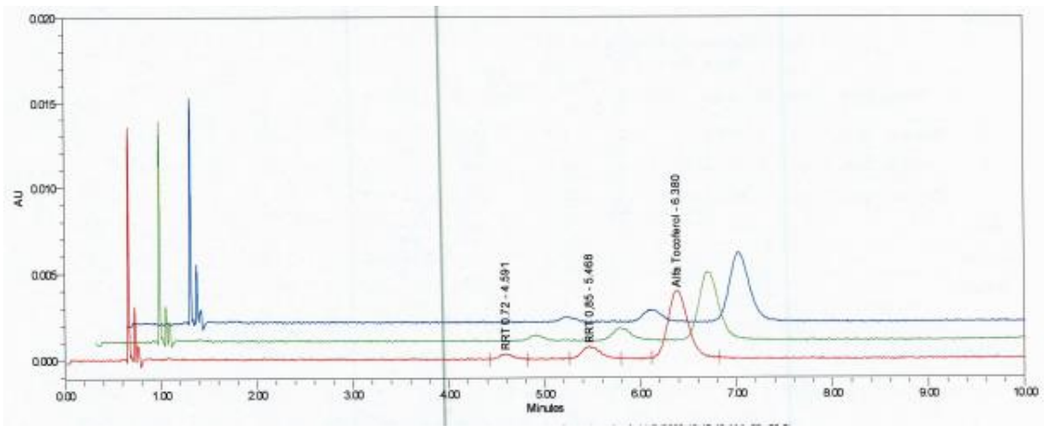


Figura 3-7.7. Cromatograma Exactitud MTA (1) - 150%.

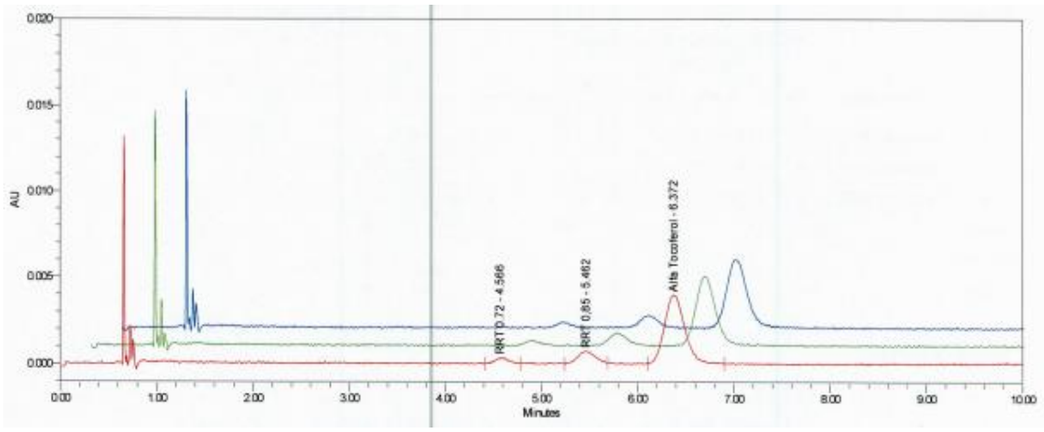


Figura 3-7.8. Cromatograma Exactitud MTA (2) - 150%.

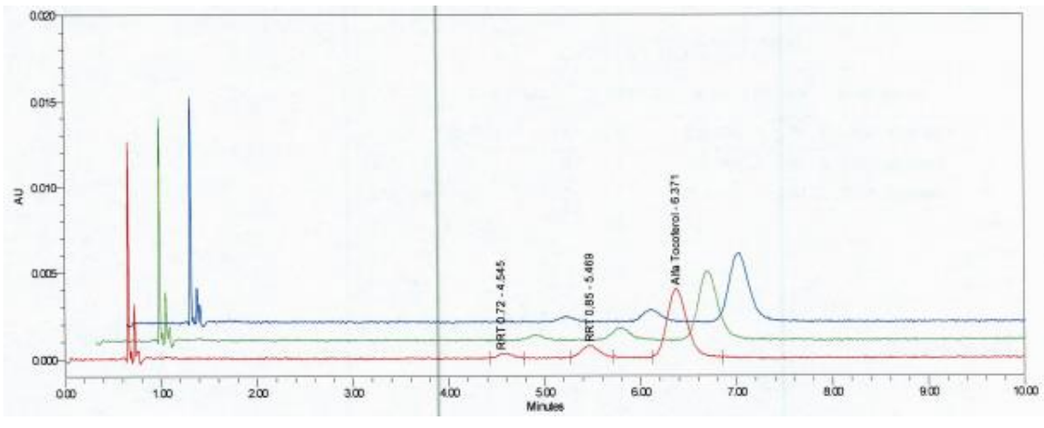


Figura 3-7.9. Cromatograma Exactitud MTA (3) - 150%.

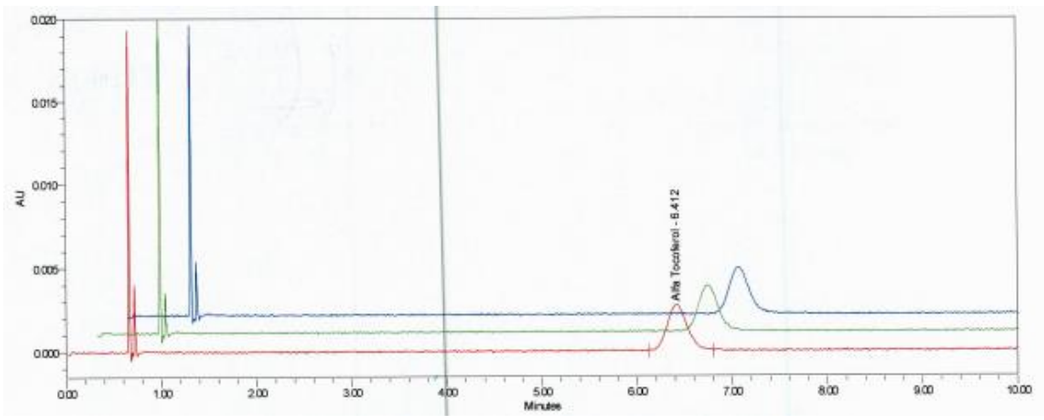


Figura 3-7.10. Cromatograma Exactitud STD (1) - 100%.

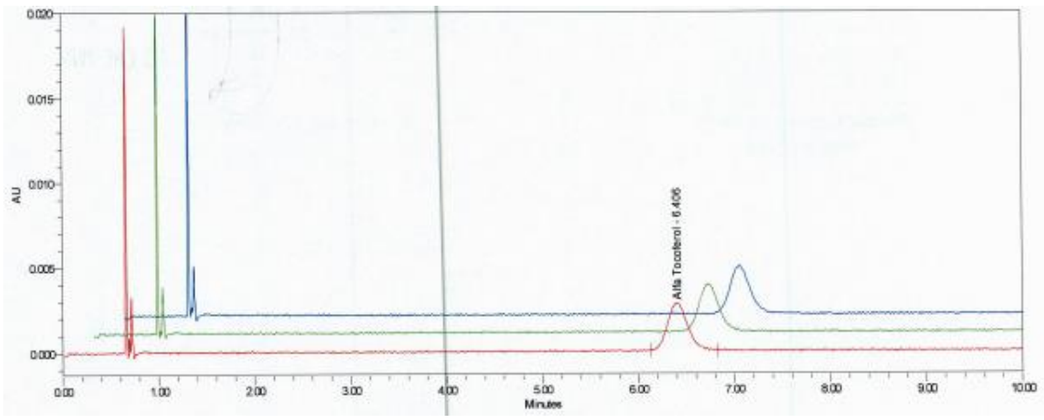


Figura 3-7.11. Cromatograma Exactitud STD (2) - 100%.

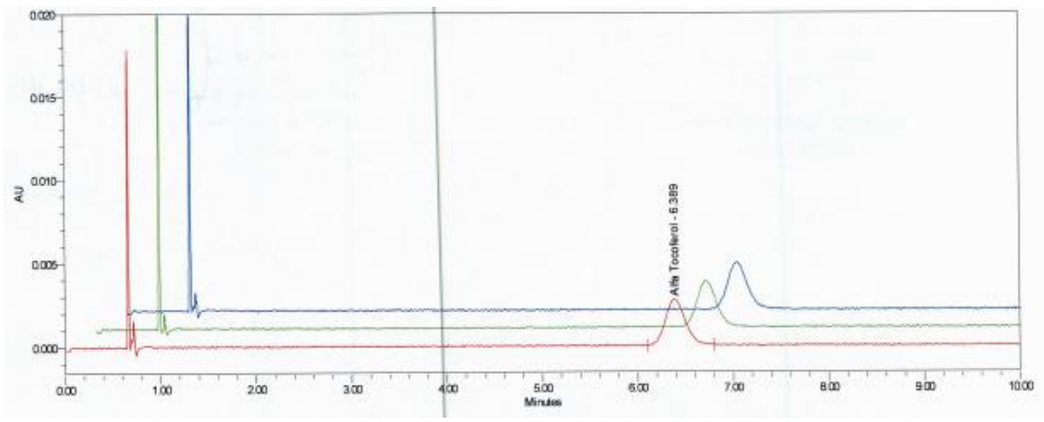


Figura 3-7.12. Cromatograma Exactitud STD (3) - 100%.

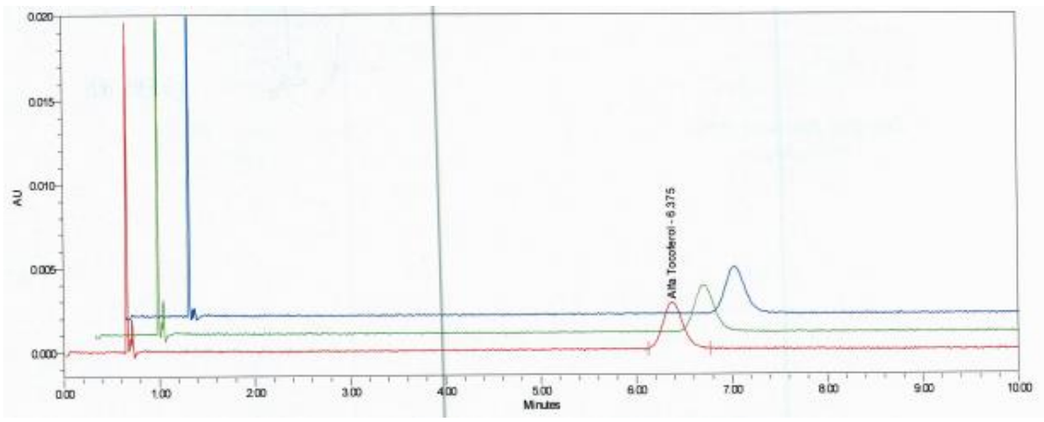


Figura 3-7.13. Cromatograma Exactitud STD (4) - 100%.

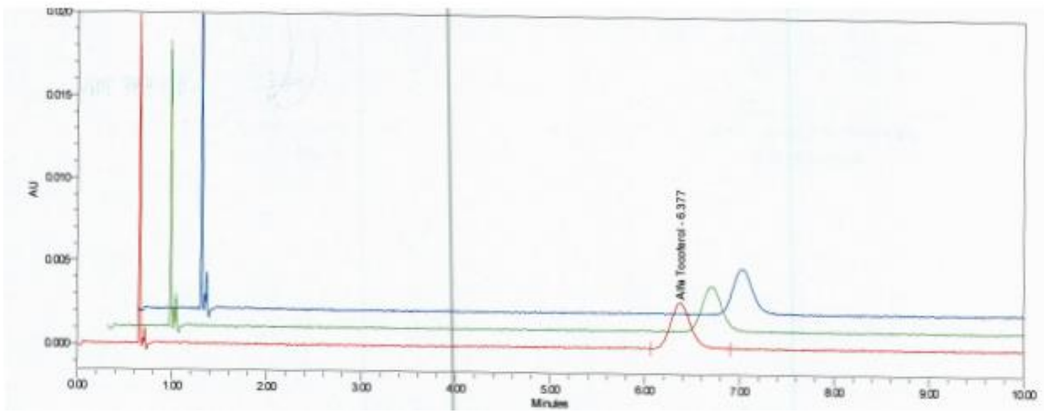


Figura 3-7.14. Cromatograma Exactitud STD (5) - 100%.

DISCUSIÓN

Con forme a los resultados obtenidos en la ejecución empírica de la validación del método de valoración de vitamina e (dl α Tocoferol), se puede presentar los siguientes puntos a discutir:

El método tiene una aptitud de sistema que se comporta de forma sostenible en el tiempo, considerando los parámetros a evaluar, los cuales son asimetría del peak principal ($As_{0,8 - 1,5}$), así como, los RSD% de los tiempos de retención (RSD ≤ 1%) y áreas (RSD ≤ 2%) entregadas por el sistema cromatográfico.

El método logra ser selectivo para la correcta identificación y cuantificación del analito, donde no se observan peaks interferentes que afecten la adecuada elución de Dl α Tocoferol. Con respecto al estrés inducido, el peak detectado como el API no sufre incrementos en la señal, considerando esto como un indicio, de que la degradación forzada de la molécula no genera sustancias relacionadas que pudiesen, eventualmente, interferir en la correcta cuantificación del analito.
Tras la observación de los espectros entregados para los peaks desconocidos, se podría inferir que al tener un comportamiento similar al API, estos serían un resultados de la degradación del mismo, como mejora al método se sugiere una evaluación del comportamiento del Placebo, el cual no estuvo disponible para el desarrollo de esta validación de método, debido a la complejidad de la matriz, la cual no se podía replicar en las condiciones del laboratorio por no tener a disposición las materias primas necesarias, considerando que este medicamento corresponde a un producto terminado de importación.

El método logra ser lineal en el rango estudiado, indiferente al efecto de la matriz en la solución muestra, los datos entregados confirman a través de los residuos que el modelo lineal es el apropiado para la estimación del analito. Con respecto a la homocedasticidad de los datos lineales, este fue evaluado con test de Cochran, el cual resulta menor al C teórico, confirmando la similitud entre las varianzas de los diferentes niveles de concentración elegidos para a prueba.

El método logra ser preciso en la identificación y cuantificación del API dl α Tocoferol, según los test planteados para este parámetro. La Repetibilidad donde se evalúan los coeficientes de variación para las respuestas, que son Áreas (CV ≤3,7%) y Tiempos de retención (CV ≤ 1%), donde estos cumplen con los criterios establecidos por la bibliografía, determinando de esta forma que el método es capaz de reproducir las respuestas conforme a la concentración del analito y además, es capaz de identificar el API a través de la reproducibilidad del tiempo de retención del mismo, demostrando que la molécula interacciona de forma consistente con el sistema cromatográfico validado.
Para la Precisión intermedia se evaluó los coeficientes de variación (CV ≤ 3,7%) de las Áreas y un T de student para la evaluación de similitud entre medias, resultando esta menor al T teórico, confirmando que no hay diferencias significativas entre los resultados entregados por los dos analistas en condiciones diferentes.

Con respecto a la Exactitud, el método es capaz de cuantificar el analito en el rango desafiado, con una variación de los resultados dentro de los criterios de aceptación, los cuales son Recuperación (95 - 105%) y Coeficiente de variación (CV ≤ 3,7%). El método seleccionado fue la carga de la muestra con un porcentaje de estándar equivalente al nivel requerido para abarcar el rango analítico, debido a la imposibilidad de preparar un batch de laboratorio o un placebo cargado con estándar.

Si bien el Límite de cuantificación no es un parámetro indispensable para la validación de un método de valoración de API, se decidió incluirlo de modo informativo para futuras aplicaciones del método a nuevos productos y/o evaluaciones de trazas, resultando este en 48,75 mg/L de Dl α Tocoferol.

El método logra demostrar un comportamiento robusto frente a los cambios propuestos, con la excepción del cambio de temperatura para el horno de la columna (15°C) el cual logra entrar en el límite superior para la recuperación requerida del analito (95 – 105%), por lo cual no se recomiendan cambios en la aplicación rutinaria del método que contemplen este parámetro. Adicionalmente se revisan los parámetros cromatográficos del peak de interés en cada cambio realizado, donde se muestra que estos cambios no afectan significativamente dichos parámetros, a excepción de los tiempos de retención que se ven influenciados por el flujo de trabajo y la temperatura de la columna, teniendo el analito un menor tiempo de interacción con la fase estacionaria, por ende, una elución más rápida.

CONCLUSIONES

El objetivo general de esta tesis que es la validación de un método no compendial para la valoración/cuantificación de dl alfa Tocoferol en la matriz correspondiente a Emulsión Parenteral, con la convicción de otorgar un método confiable para la estimación de esta importante vitamina en la dieta de pacientes de alto riesgo, se logra verificar que los resultados obtenidos por el método desafiado cumplen con los estándares planteados, demostrando que el método es sensible, robusto, lineal, preciso y exacto en el rango analítico.

Finalmente, se puede concluir que el método no compendial fue exitosamente validado y puede ser utilizado en la rutina del laboratorio de control de calidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gomis Muñoz, P., & Valero Zanuy, M. A. (2010). Nutrición Parenteral. En *Tratado de Nutrición* (Vol. 4, págs. 143-170).
2. *Lamberts Española SL*. (2020). Obtenido de Breve Historia de la Vitamina E: https://lamberts.es/art-dsp/breve-historia-de-la-vitamina-e/?form=MG0AV3
3. Bell, E. (1987). History of Vitamin E in infant nutrition. *Journal American Society for Clinical Nutrition, 46*, 183 - 186.
4. *Drugbank.* (2022). Obtenido de Tocopherol - Drugbank: https://go.drugbank.com/drugs/DB11251
5. *Alpha-Tocopherol.* (2025). Obtenido de PUBCHEM: HTTPS://PUBCHEM.NCBI.NLM.NIH.GOV/COMPOUND/ALPHA-TOCOPHEROL
6. Gil Hernadez, A. (2005). Vitamina C, Vitamina E y otros antioxidantes. En *Tratado de Nutrición* (Vol. 1, págs. 669 - 673).
7. Sies, H., & Stahl, W. (1995). Vitamins E and C, Betacarotene and other carotenoids as antioxidants. *The Americans Journal of Clinical Nutrition, 62*(6), 1315S - 1321S.
8. Kedal, N., Kumar, A., Kochupillai, V., & Cole, W. (2013). High Doses of Multiple Antioxidant Vitamns: Essential Ingredents in Improving the Efficacy of Standard Cancer Theraphy. *Journal of the American College of Nutrition, 18*, 13-25.
9. Satoru, M., & Mikako, M. (2000). Vitamin E and Immunity. *Vitamins and Hormones, 59*. (F. o. Departament of Nutrition, Ed.) Yamaguchi, Japon.
10. *European Medicines Agency.* (2023). Obtenido de ICH Q2 - Validation of Analytical Procedures: https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_Q2%28R2%29_Guideline_2023_1130.pdf
11. *Instituto de Salud Publica de Chile.* (2010). Obtenido de Guia Técnica N°1: https://www.ispch.cl/sites/default/files/documento_tecnico/2010/12/Guia%20T%C3%A9cnica%201%20validaci%C3%B3n%20de%20M%C3%A9todos%20y%20determinaci%C3%B3n%20de%20la%20incertidumbre%20de%20la%20medici%C3%B3n_1.pdf
12. *Instituto de Salud Publica de Chile.* (2015). Obtenido de Guia Practica N°201: file:///F:/Biblioteca/Guia%20tecnica%20para%20validaci%C3%B3n%20de%20metodos%20isp.pdf
13. *Apendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements.* (2019). Obtenido de AOAC International: https://www.aoac.org/wp-content/uploads/2019/08/app_f.pdf

ANEXO A: CROMATOGRAMAS SST

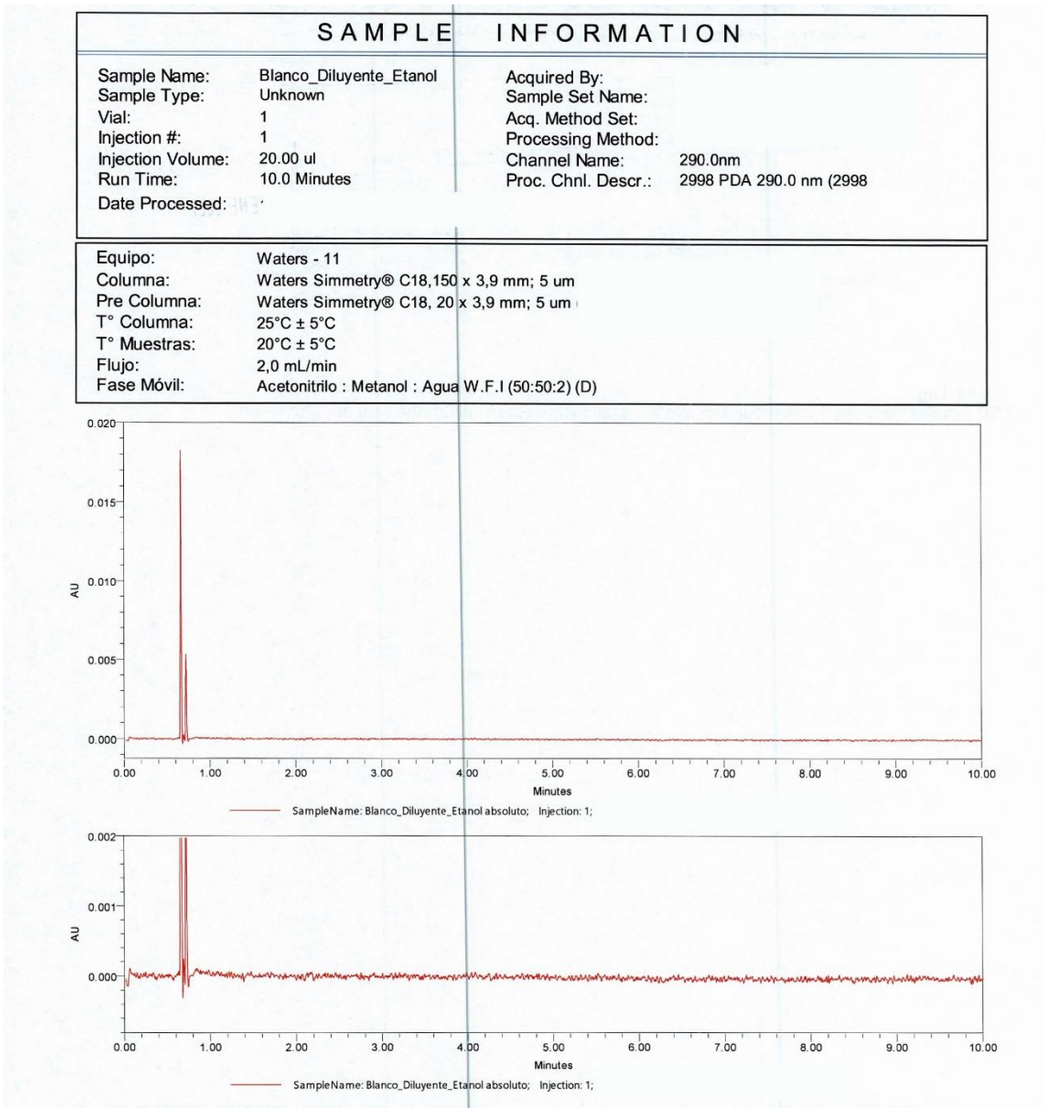


Figura A.1. Blanco Diluyente - EtOH.

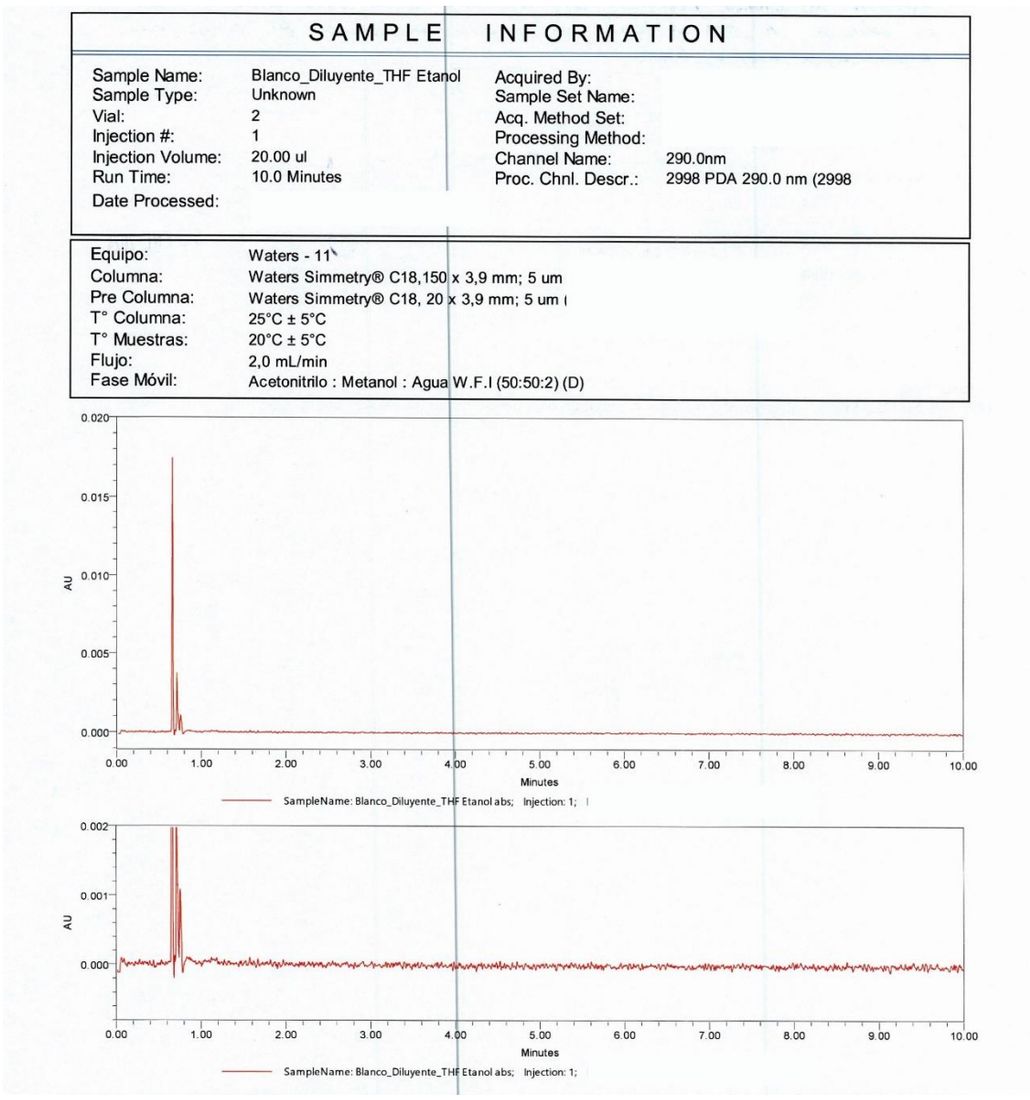
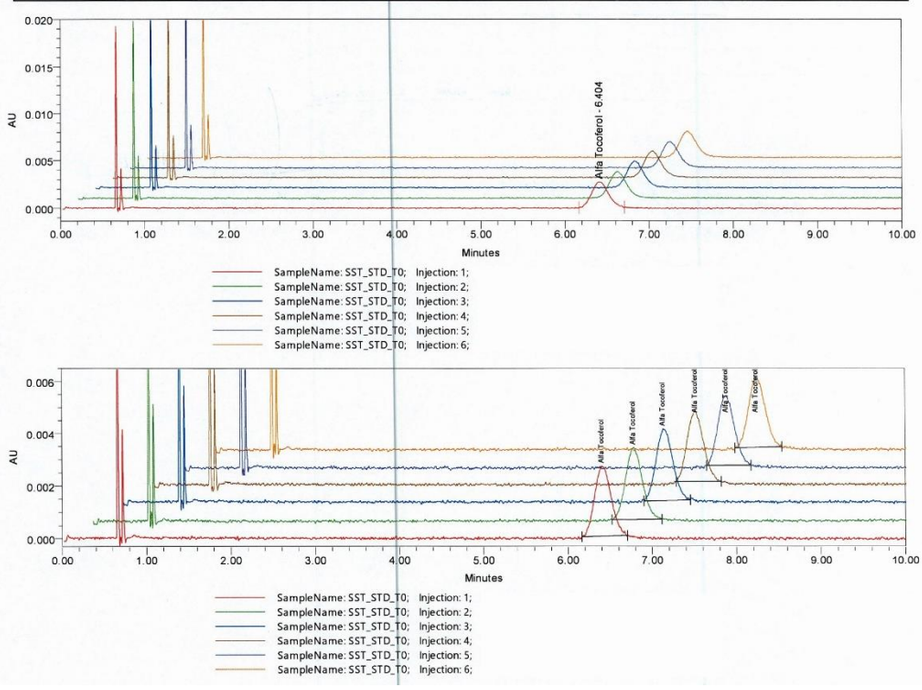


Figura A.2. Blanco Diluyente – THF c/ EtOH.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	SST_STD_T0	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	3	Acq. Method Set:	
Injection #:	6, 1, 2, 5, 4, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

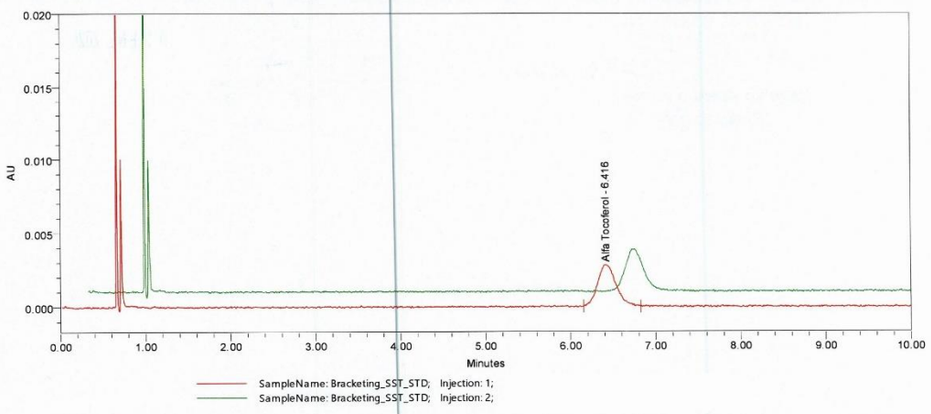
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Plate Count	RT	Area
1	SST_STD_T0	3	1	Alfa Tocoferol	43	1.1	4708	6.4	36829
2	SST_STD_T0	3	2	Alfa Tocoferol	60	1.1	4515	6.4	38054
3	SST_STD_T0	3	3	Alfa Tocoferol	36	1.1	4614	6.4	37820
4	SST_STD_T0	3	4	Alfa Tocoferol	48	1.1	4613	6.4	36288
5	SST_STD_T0	3	5	Alfa Tocoferol	45	1.1	4667	6.4	36827
6	SST_STD_T0	3	6	Alfa Tocoferol	50	1.1	4315	6.4	37172
Mean					47	1.1	4572	6.4	37165
Std. Dev.								0.0	666
% RSD								0.1	1.8

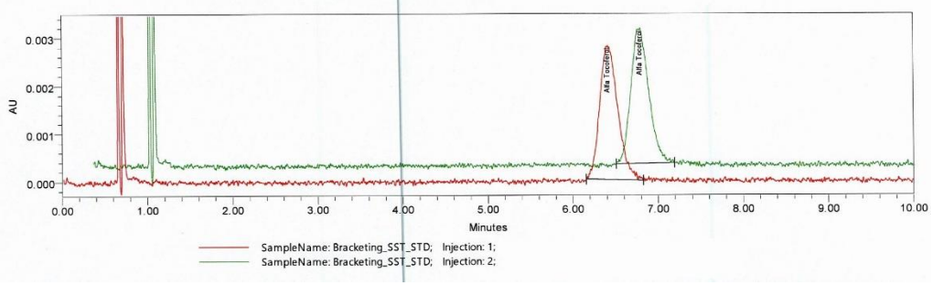
Figura A.3. System Suitability.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Bracketing_SST_STD	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	102	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)





System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Plate Count	RT	Area
1	Bracketing_SST_STD	102	1	Alfa Tocoferol	42	1.2	4458	6.4	41531
2	Bracketing_SST_STD	102	2	Alfa Tocoferol	53	1.1	4381	6.4	41455
Mean					47	1.1	4419	6.4	41493
Std. Dev.								0.0	54
% RSD								0.1	0.1

Figura A.4. System Suitability - cierre.

ANEXO B: CROMATOGRAMAS SELECTIVIDAD

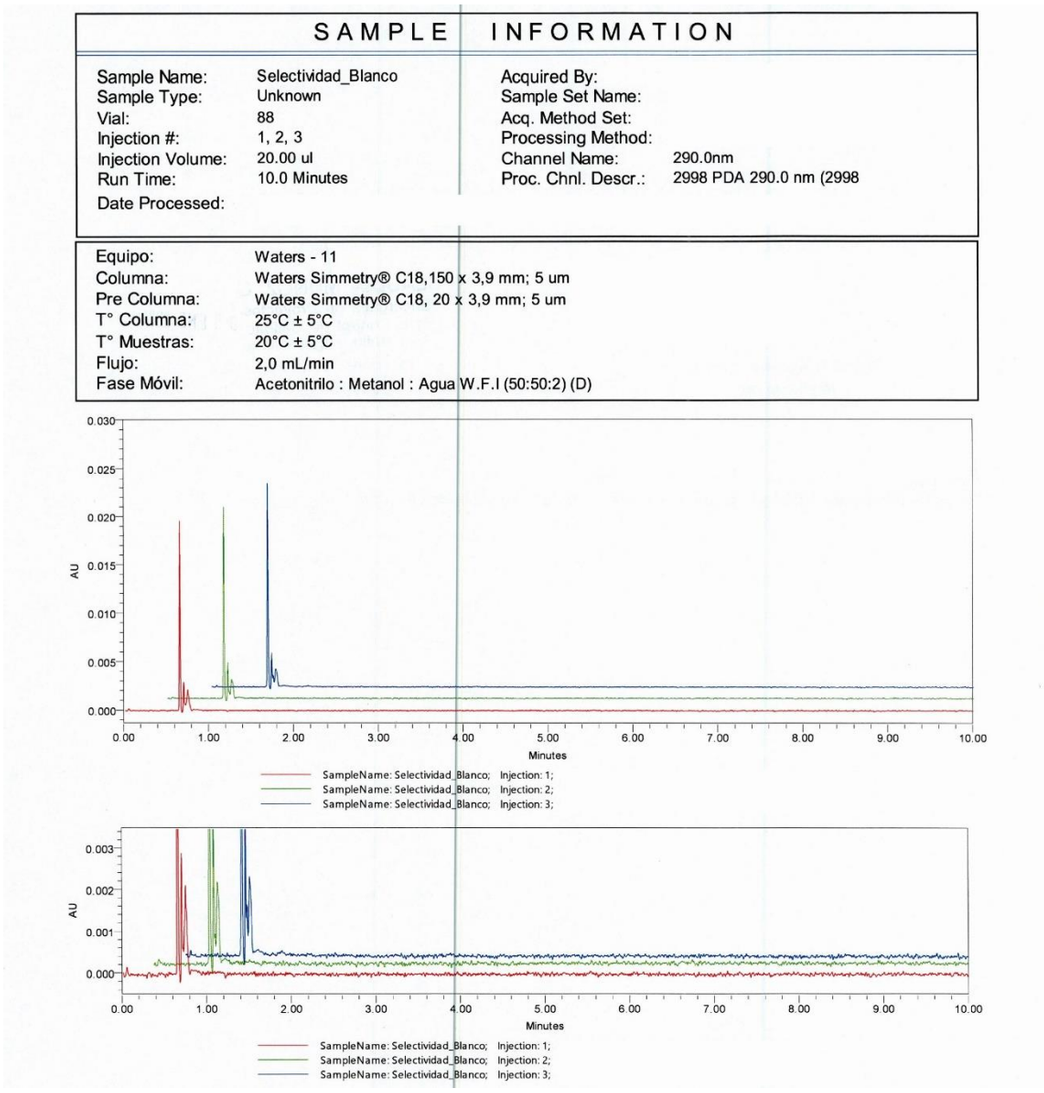


Figura B.1. Selectividad - Blanco.

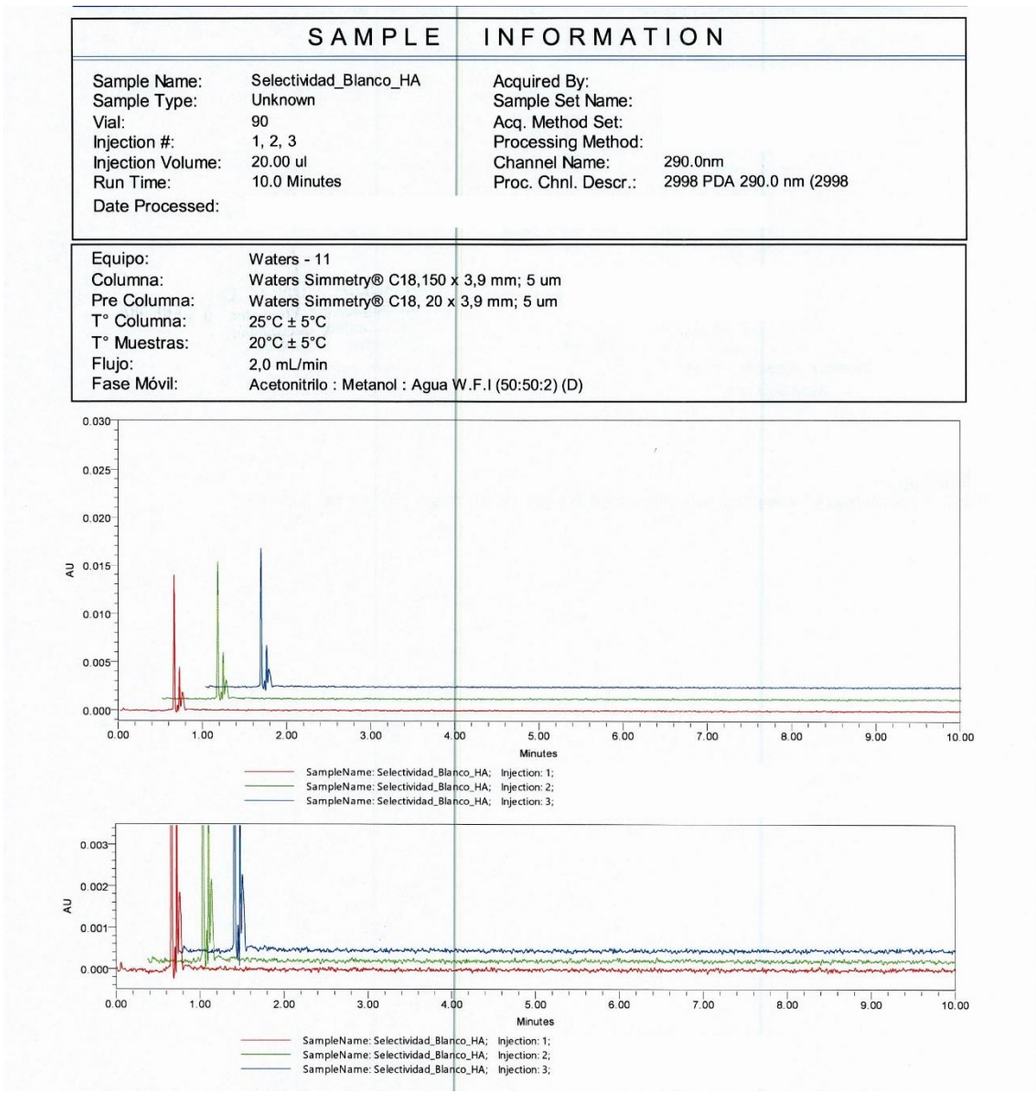


Figura B.2. Selectividad Blanco – Hidrólisis Ácida.

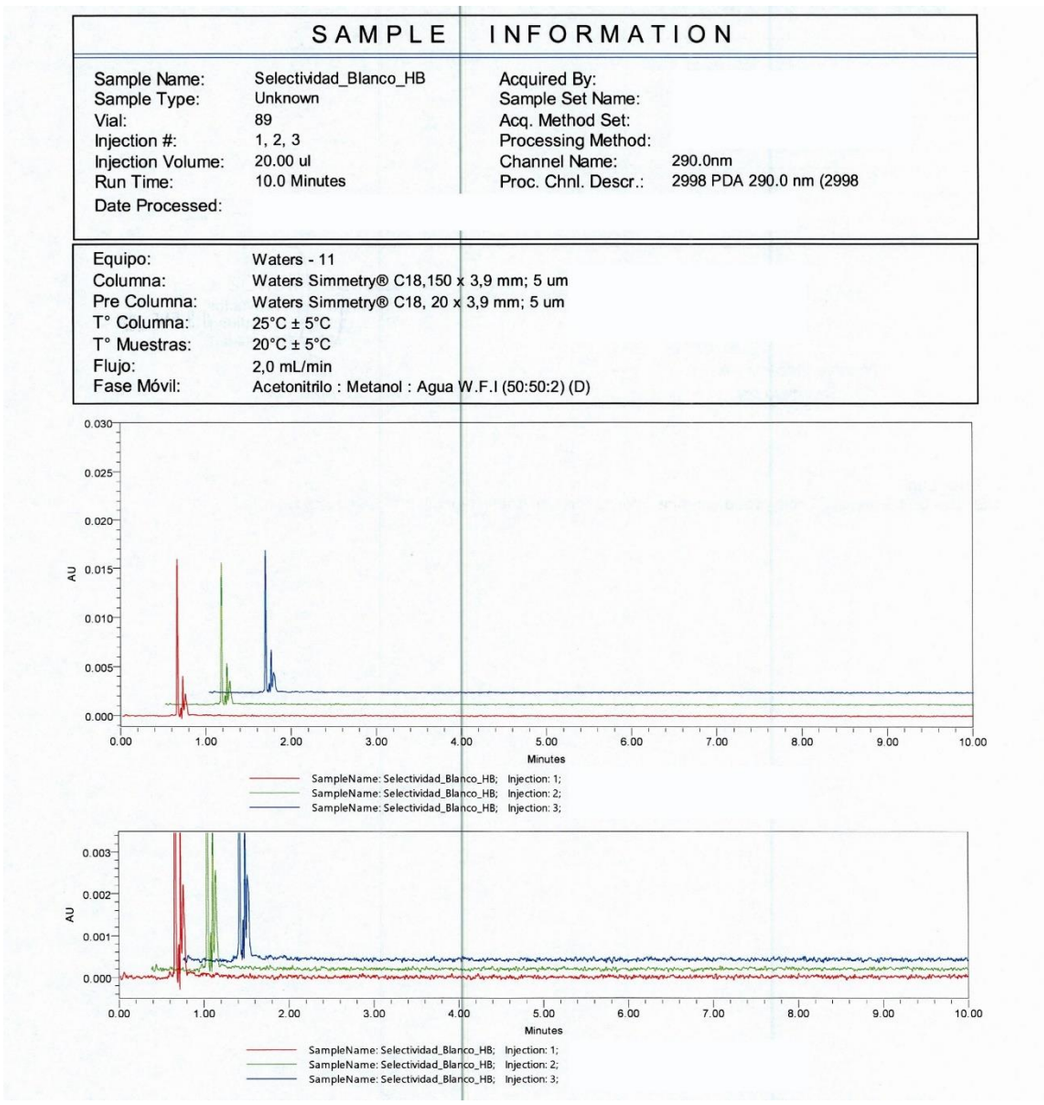


Figura B.3. Selectividad Blanco – Hidrólisis Básica.

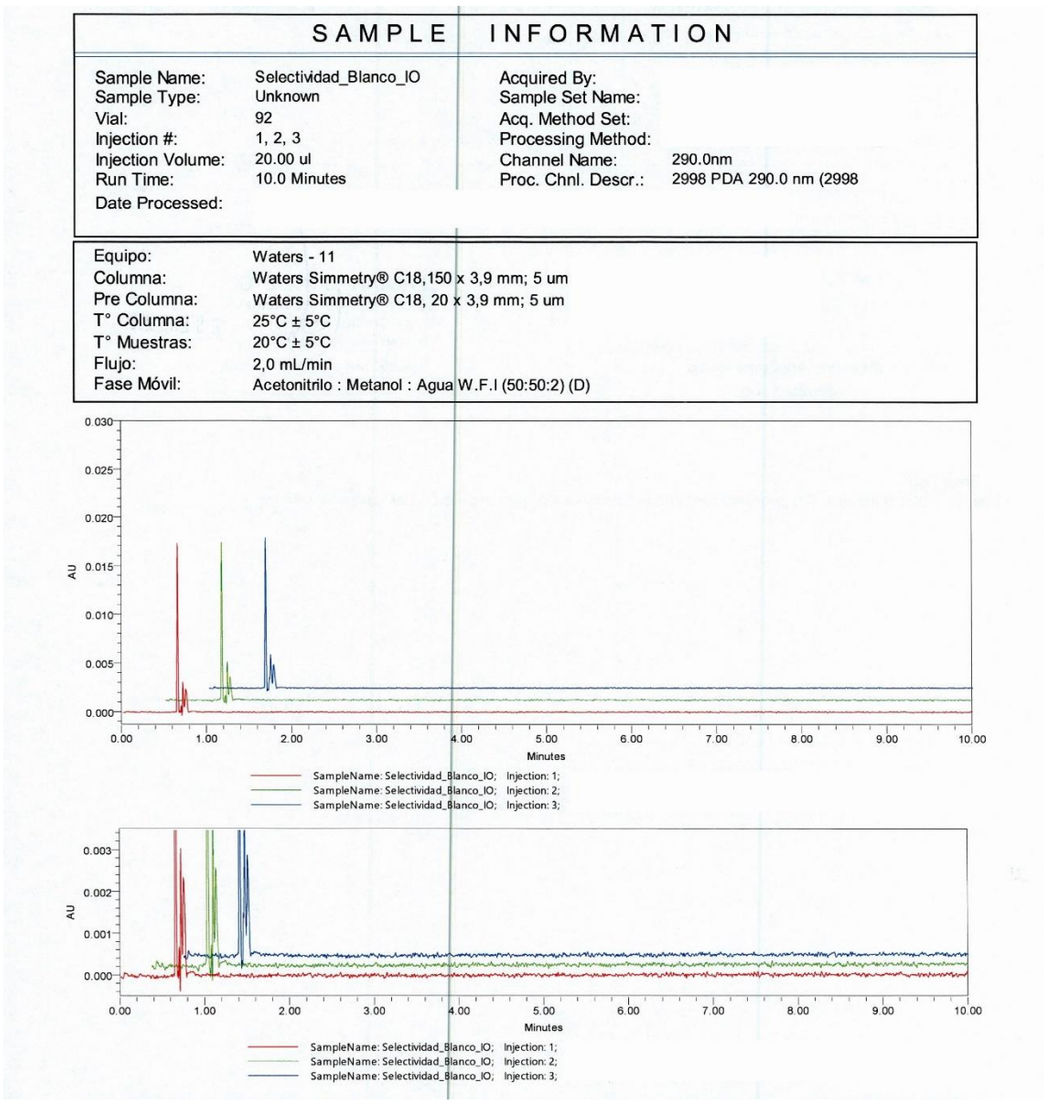


Figura B.4. Selectividad Blanco – Iones Metálicos.

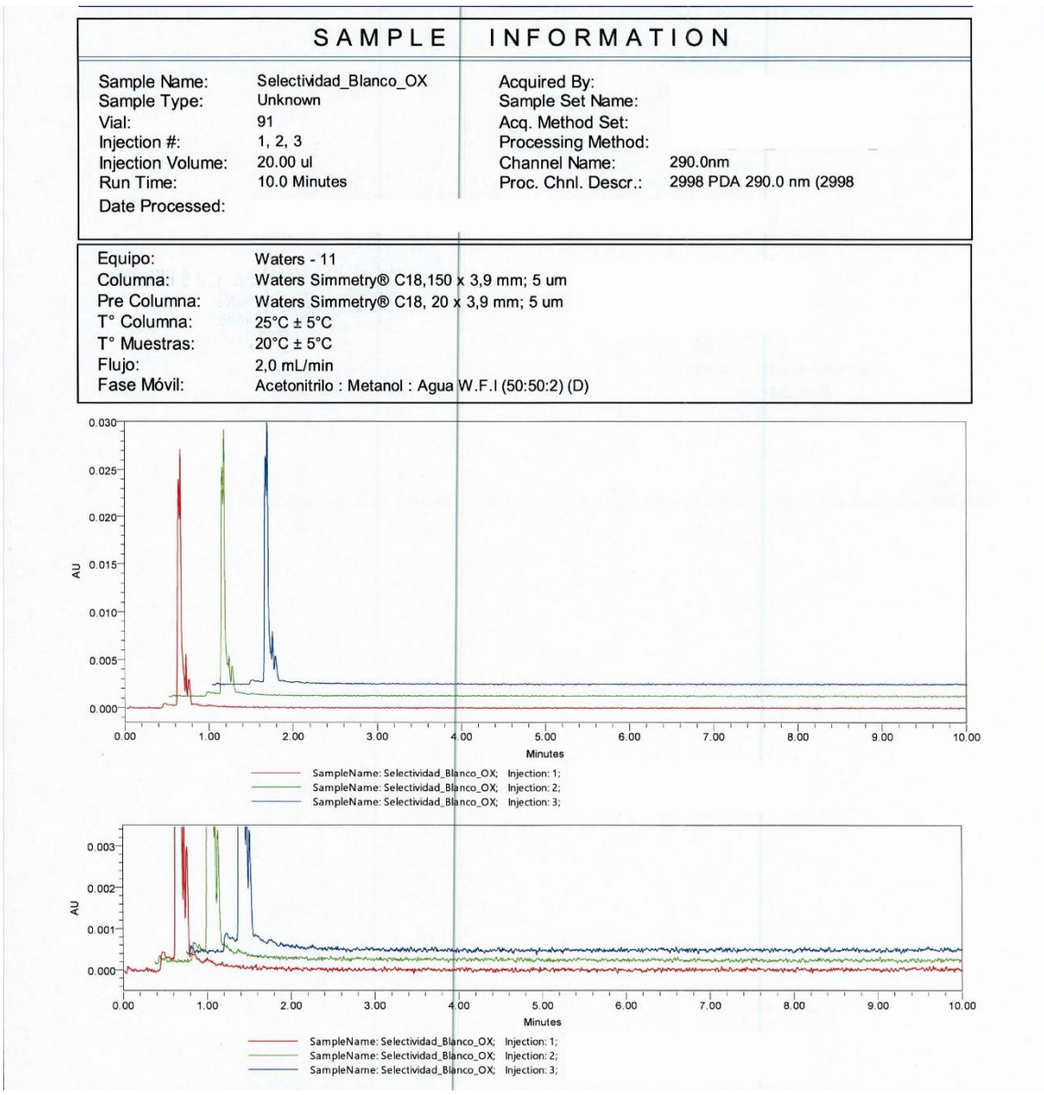
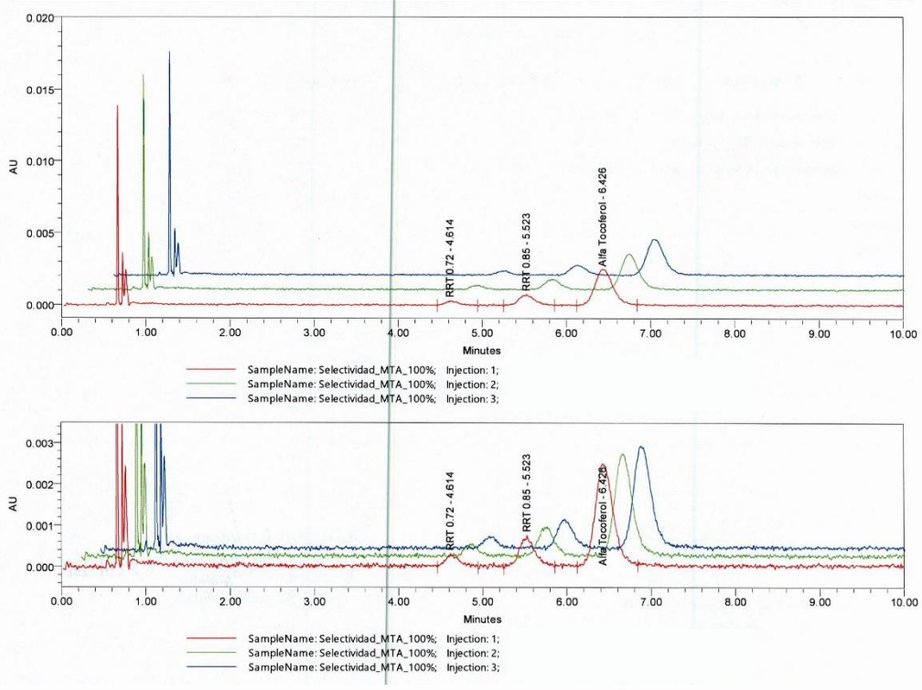


Figura B.5. Selectividad Blanco – Oxidación.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Selectividad_MTA_100%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	94	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Selectividad_MTA_100%	94	1	Alfa Tocoferol	50	1.2	2.5	4494	6.4	37519
2	Selectividad_MTA_100%	94	2	Alfa Tocoferol	50	1.2	2.3	4393	6.4	38186
3	Selectividad_MTA_100%	94	3	Alfa Tocoferol	48	1.1	2.3	4181	6.4	37989
Mean					49	1.2	2.4	4356	6.4	37898

System Suitability Summary Results
Name: RRT 0.72

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Plate Count	RT	Area
1	Selectividad_MTA_100%	94	1	RRT 0.72	6	1.3	40782	4.6	4027
2	Selectividad_MTA_100%	94	2	RRT 0.72	6	1.0	81662	4.6	3753
3	Selectividad_MTA_100%	94	3	RRT 0.72	5	0.9	75467	4.6	3484
Mean					6	1.1	65971	4.6	3755

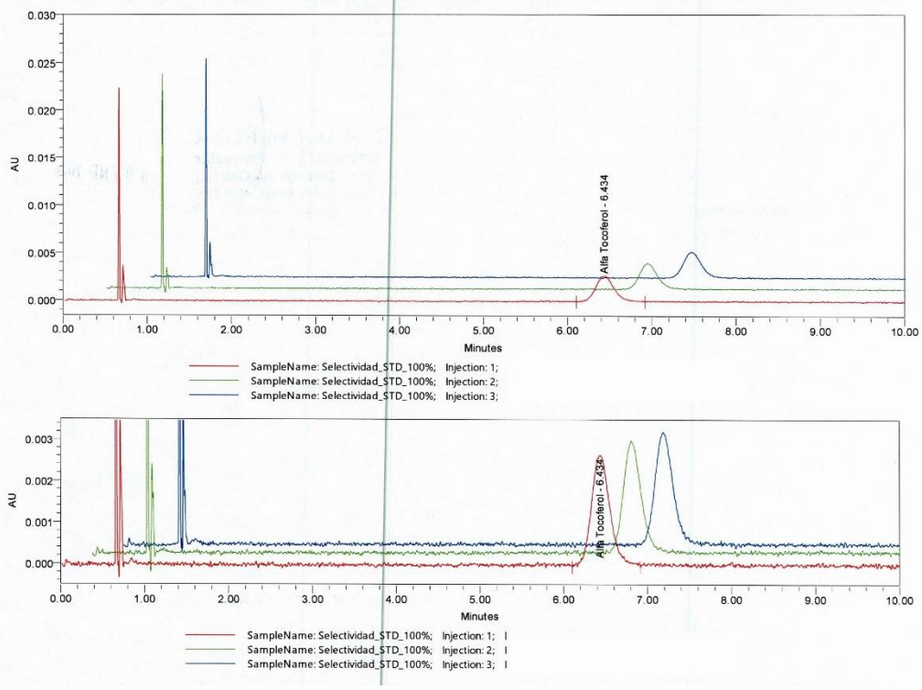
System Suitability Summary Results
Name: RRT 0.85

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Selectividad_MTA_100%	94	1	RRT 0.85	15	1.0	4.2	4160	5.5	10535
2	Selectividad_MTA_100%	94	2	RRT 0.85	14	0.8	3.9	3165	5.5	11107
3	Selectividad_MTA_100%	94	3	RRT 0.85	13	1.1	3.9	3202	5.5	10463
Mean					14	1.0	4.0	3509	5.5	10701

Figura B.6. Selectividad Muestra sin tratamiento.

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	Selectividad_STD_100%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	93	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

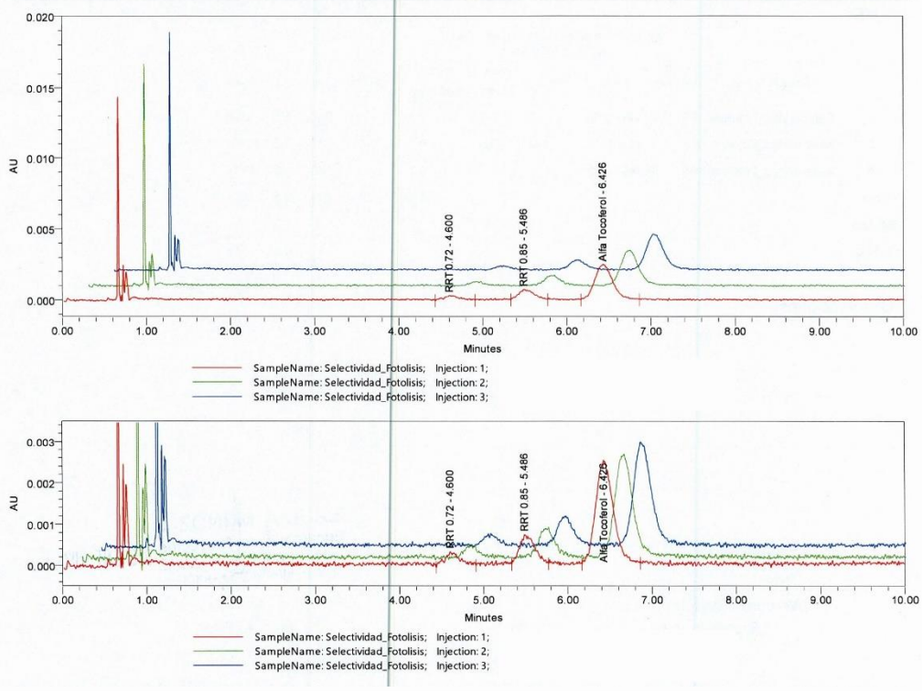
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Plate Count	RT	Area
1	Selectividad_STD_100%	93	1	Alfa Tocoferol	44	1.1	4001	6.4	42474
2	Selectividad_STD_100%	93	2	Alfa Tocoferol	37	1.2	4167	6.4	41541
3	Selectividad_STD_100%	93	3	Alfa Tocoferol	51	1.1	4177	6.4	42884
Mean					44	1.1	4115	6.4	42300
Std. Dev.								0.0	688
% RSD								0.1	1.6

Figura B.7. Selectividad Estándar sin tratamiento.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Selectividad_Fotolisis	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	95	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Selectividad_Fotolisis	95	1	Alfa Tocoferol	40	1.2	2.5	4179	6.4	36693
2	Selectividad_Fotolisis	95	2	Alfa Tocoferol	34	1.0	2.4	4263	6.4	38069
3	Selectividad_Fotolisis	95	3	Alfa Tocoferol	40	1.2	2.4	4231	6.4	37889
Mean					38	1.2	2.4	4224	6.4	37550

System Suitability Summary Results
Name: RRT 0.72

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Plate Count	RT	Area
1	Selectividad_Fotolisis	95	1	RRT 0.72	5	1.2	64346	4.6	4659
2	Selectividad_Fotolisis	95	2	RRT 0.72	3	0.9	534047	4.7	4002
3	Selectividad_Fotolisis	95	3	RRT 0.72	4	0.9	63026	4.6	3664
Mean					4	1.0	220473	4.6	4108

System Suitability Summary Results
Name: RRT 0.85

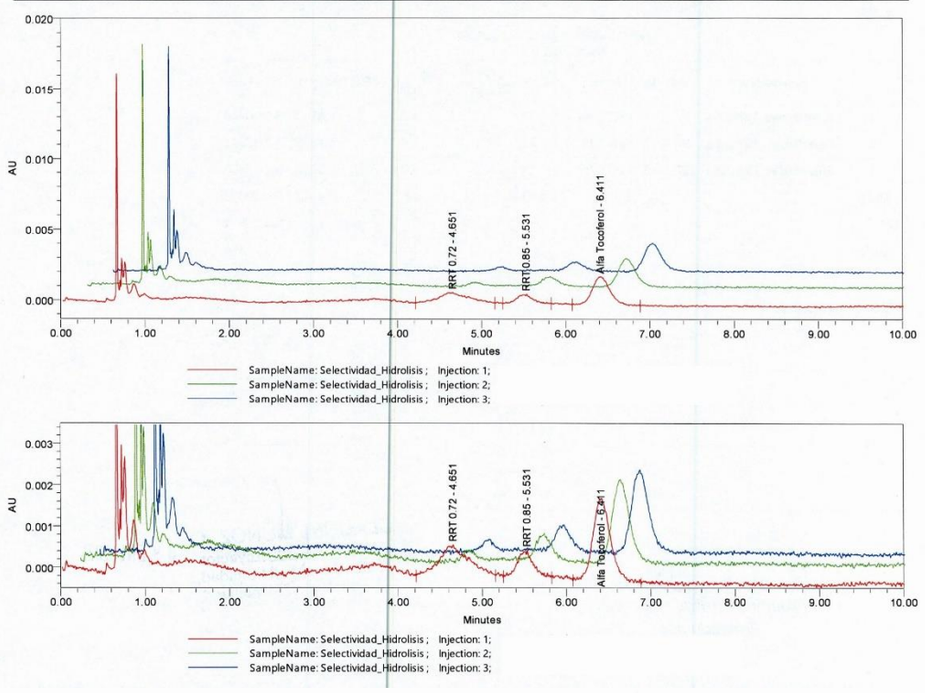
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Selectividad_Fotolisis	95	1	RRT 0.85	11	1.4	4.1	3672	5.5	9126
2	Selectividad_Fotolisis	95	2	RRT 0.85	10	0.8	4.7	4172	5.5	11105
3	Selectividad_Fotolisis	95	3	RRT 0.85	11	1.1	4.3	4284	5.5	9910
Mean					10	1.1	4.4	4043	5.5	10047

Figura B.8. Selectividad - Fotólisis.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Selectividad_Hidrolisis	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	97	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Selectividad_Hidrolisis	97	1	Alfa Tocoferol	35	1.1	2.4	4233	6.4	30564
2	Selectividad_Hidrolisis	97	2	Alfa Tocoferol	37	1.1	2.5	4489	6.4	29982
3	Selectividad_Hidrolisis	97	3	Alfa Tocoferol	34	1.1	2.4	4369	6.4	30180
Mean					36	1.1	2.4	4364	6.4	30242

System Suitability Summary Results
Name: RRT 0.72

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Plate Count	RT	Area
1	Selectividad_Hidrolisis	97	1	RRT 0.72	13	1.0	850	4.7	18109
2	Selectividad_Hidrolisis	97	2	RRT 0.72	5	1.2	64676	4.6	3697
3	Selectividad_Hidrolisis	97	3	RRT 0.72	4	0.9	589005	4.6	3249
Mean					7	1.1	218177	4.6	8352

System Suitability Summary Results
Name: RRT 0.85

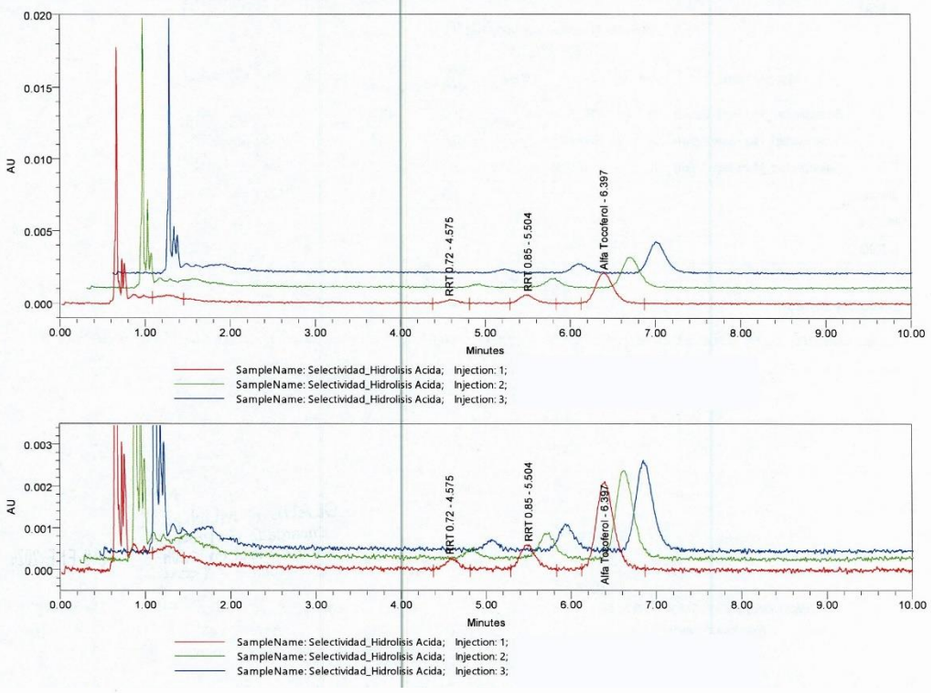
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Selectividad_Hidrolisis	97	1	RRT 0.85	11	0.9	1.8	3947	5.5	8446
2	Selectividad_Hidrolisis	97	2	RRT 0.85	12	1.0	4.4	4353	5.5	9042
3	Selectividad_Hidrolisis	97	3	RRT 0.85	11	1.0	4.7	3932	5.5	9595
Mean					11	1.0	3.6	4077	5.5	9027

Figura B.9. Selectividad - Hidrólisis.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Selectividad_Hidrolisis Acida	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	99	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Selectividad_Hidrolisis Acida	99	1	Alfa Tocoferol	36	1.1	4.0	4260	6.4	31742
2	Selectividad_Hidrolisis Acida	99	2	Alfa Tocoferol	38	1.1	2.3	4559	6.4	30682
3	Selectividad_Hidrolisis Acida	99	3	Alfa Tocoferol	33	1.2	2.3	4174	6.4	32639
Mean					36	1.1	2.9	4331	6.4	31688

System Suitability Summary Results
Name: RRT 0.72

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Selectividad_Hidrolisis Acida	99	1	RRT 0.72	4	1.1	58.3	177520	4.6	3632
2	Selectividad_Hidrolisis Acida	99	2	RRT 0.72	4	0.9	10.2	48526	4.6	3551
3	Selectividad_Hidrolisis Acida	99	3	RRT 0.72	3	0.8	64.4	168179	4.6	3469
Mean					4	0.9	44.3	131408	4.6	3551

System Suitability Summary Results
Name: RRT 0.85

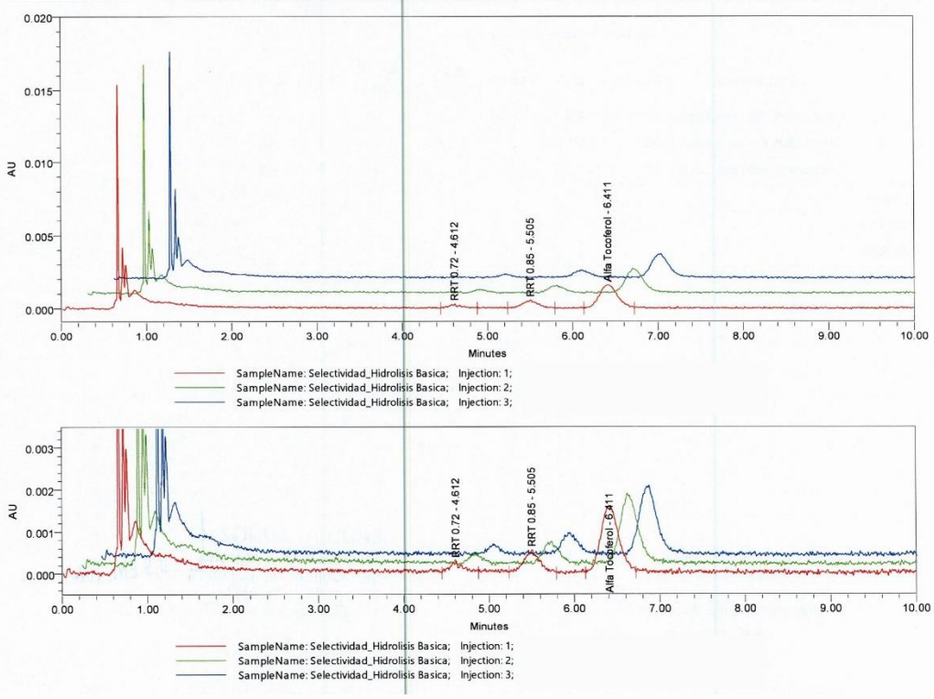
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Selectividad_Hidrolisis Acida	99	1	RRT 0.85	10	1.0	18.9	160339	5.5	8480
2	Selectividad_Hidrolisis Acida	99	2	RRT 0.85	10	0.8	3.9	3453	5.5	8585
3	Selectividad_Hidrolisis Acida	99	3	RRT 0.85	9	1.1	3.7	7574	5.5	9158
Mean					10	1.0	8.8	57122	5.5	8741

Figura B.10. Selectividad – Hidrólisis Ácida.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Selectividad_Hidrolisis Basica	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	98	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Selectividad_Hidrolisis Basica	98	1	Alfa Tocoferol	30	1.2	2.5	4319	6.4	23502
2	Selectividad_Hidrolisis Basica	98	2	Alfa Tocoferol	24	1.2	3.0	4051	6.4	24559
3	Selectividad_Hidrolisis Basica	98	3	Alfa Tocoferol	27	1.0	2.8	4341	6.4	23081
Mean					27	1.1	2.8	4237	6.4	23714

System Suitability Summary Results
Name: RRT 0.72

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Plate Count	RT	Area
1	Selectividad_Hidrolisis Basica	98	1	RRT 0.72	5	1.3	88302	4.6	3010
2	Selectividad_Hidrolisis Basica	98	2	RRT 0.72	3	1.1	62674	4.6	2927
3	Selectividad_Hidrolisis Basica	98	3	RRT 0.72	4	1.2	350540	4.6	2693
Mean					4	1.2	167172	4.6	2876

System Suitability Summary Results
Name: RRT 0.85

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Selectividad_Hidrolisis Basica	98	1	RRT 0.85	10	1.1	4.4	4087	5.5	6831
2	Selectividad_Hidrolisis Basica	98	2	RRT 0.85	7	1.2	6.7	12596	5.5	7314
3	Selectividad_Hidrolisis Basica	98	3	RRT 0.85	8	1.1	6.1	6843	5.5	7173
Mean					8	1.1	5.7	7842	5.5	7106

Figura B.11. Selectividad – Hidrólisis Básica.

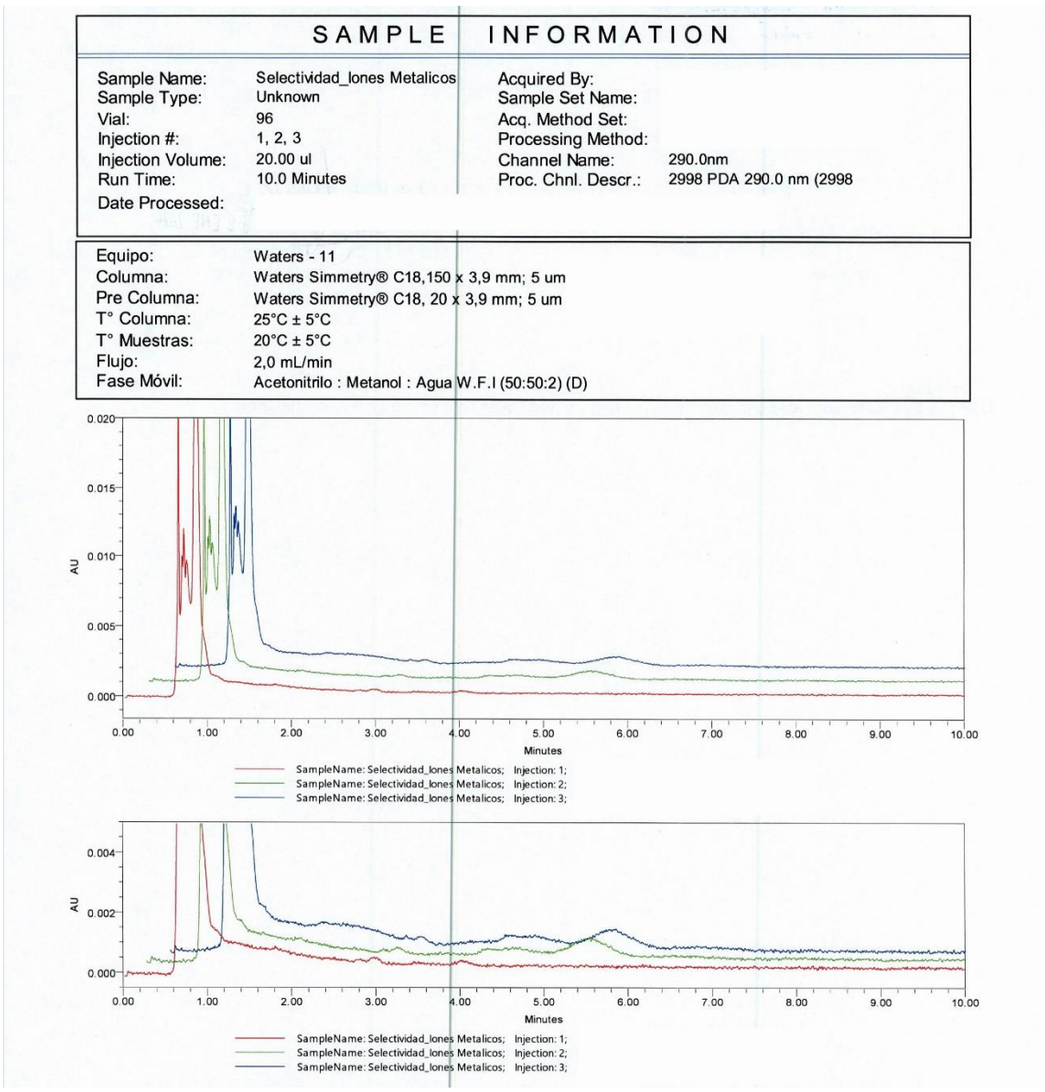
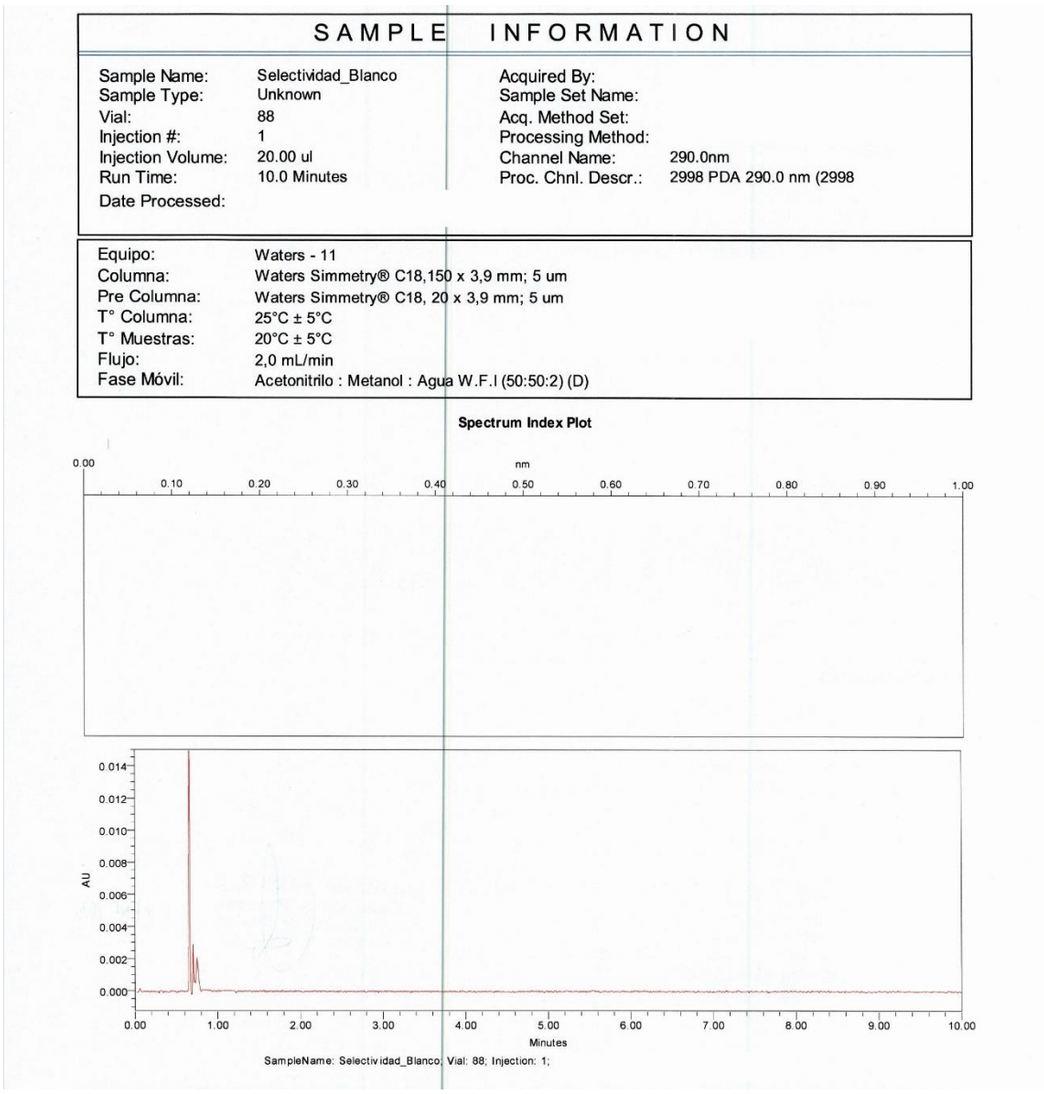


Figura B.12. Selectividad – Iones Metálicos.

ANEXO C: ESPECTROS SELECTIVIDAD



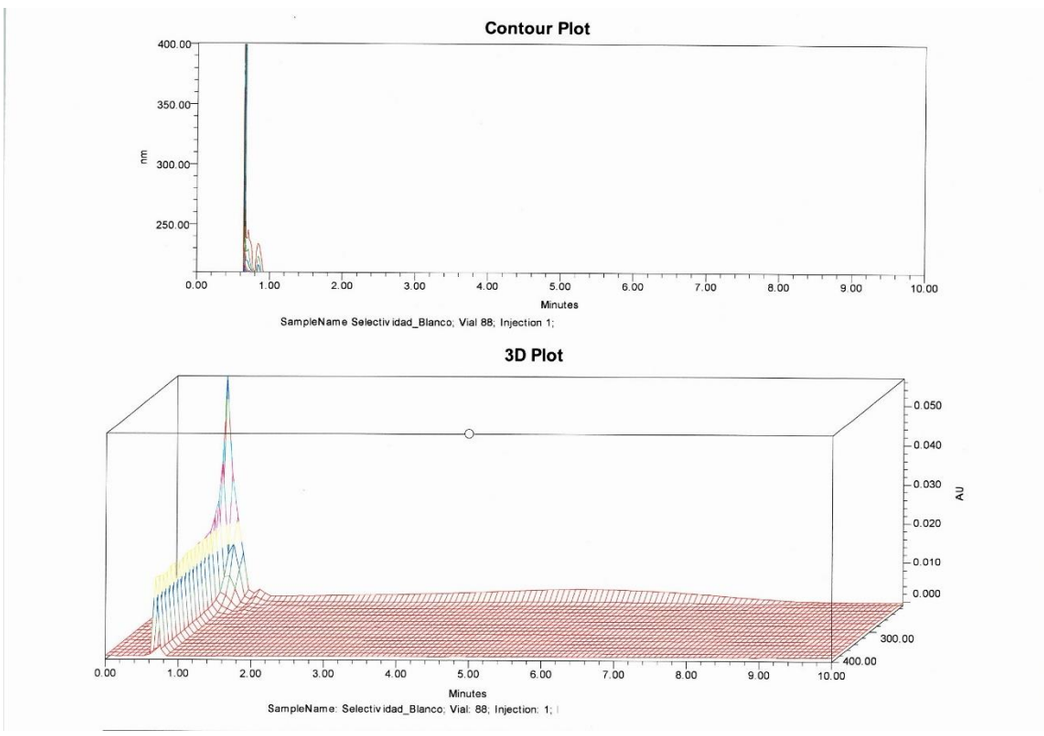
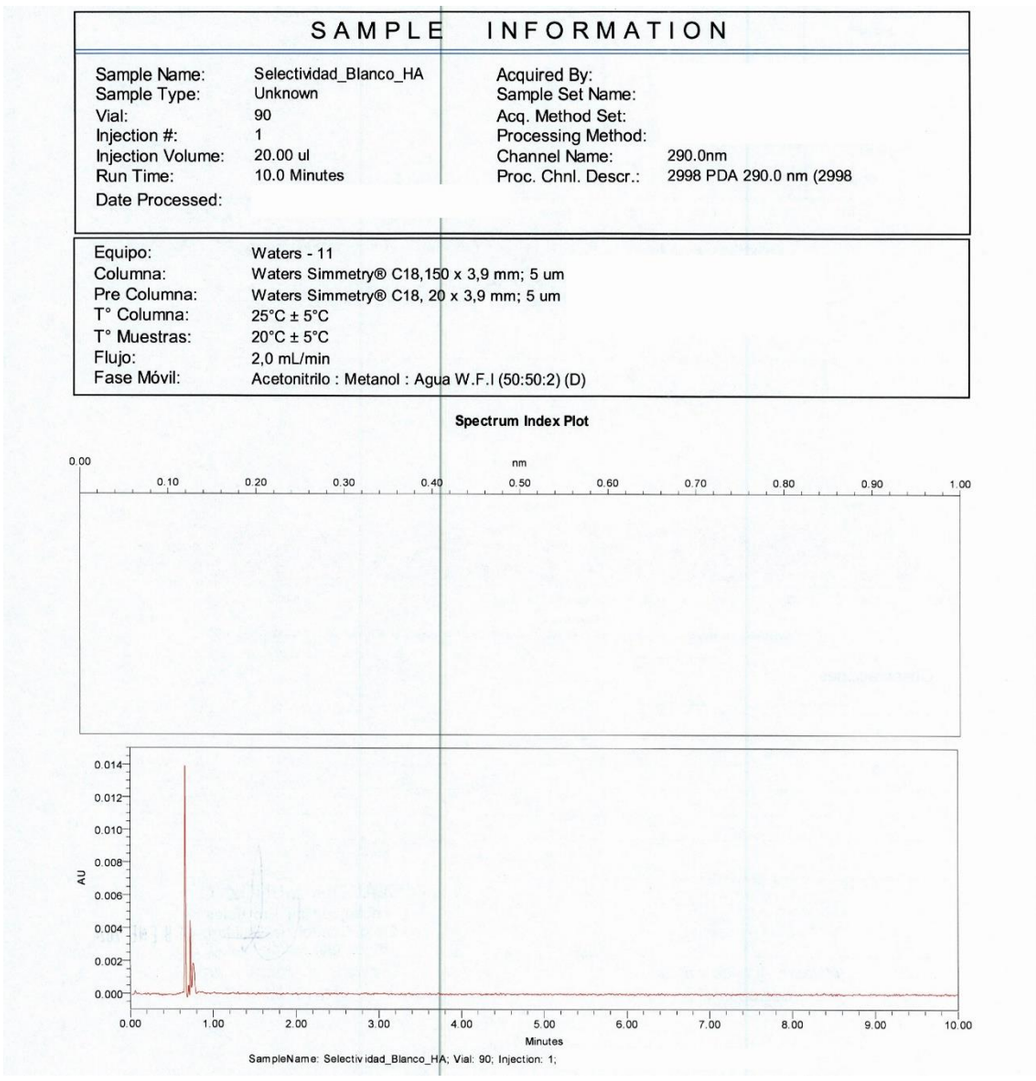


Figura C.1. Espectro - Blanco.



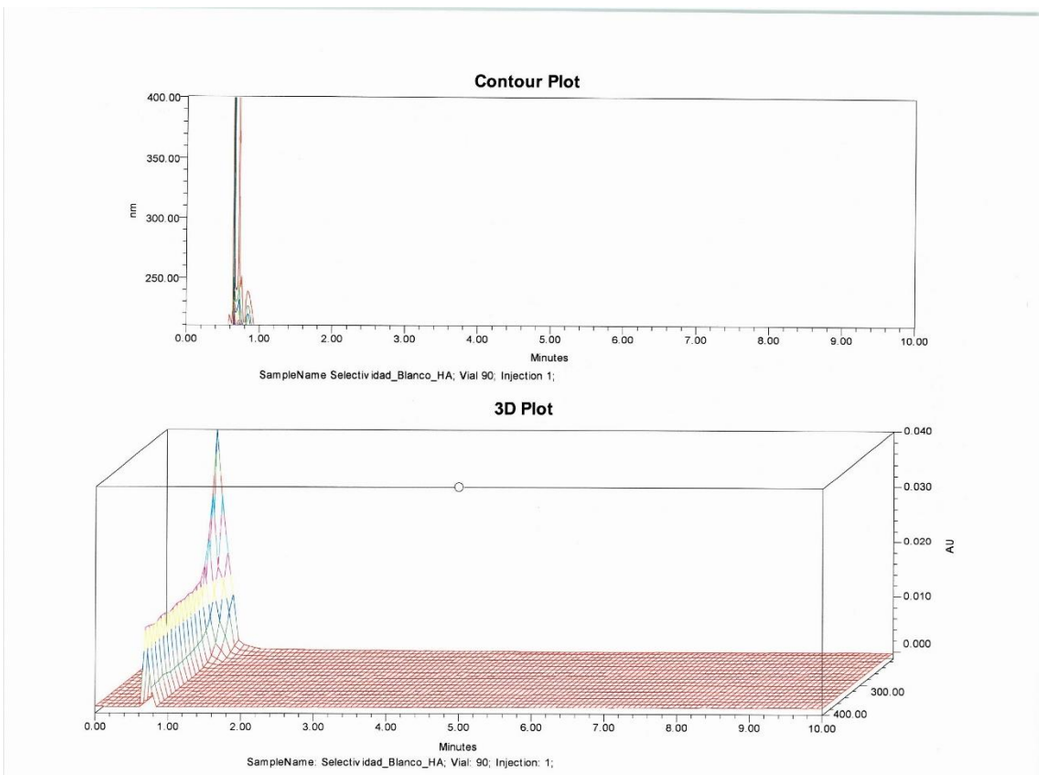


Figura C.2. Espectro - Blanco Hidrólisis Ácida.

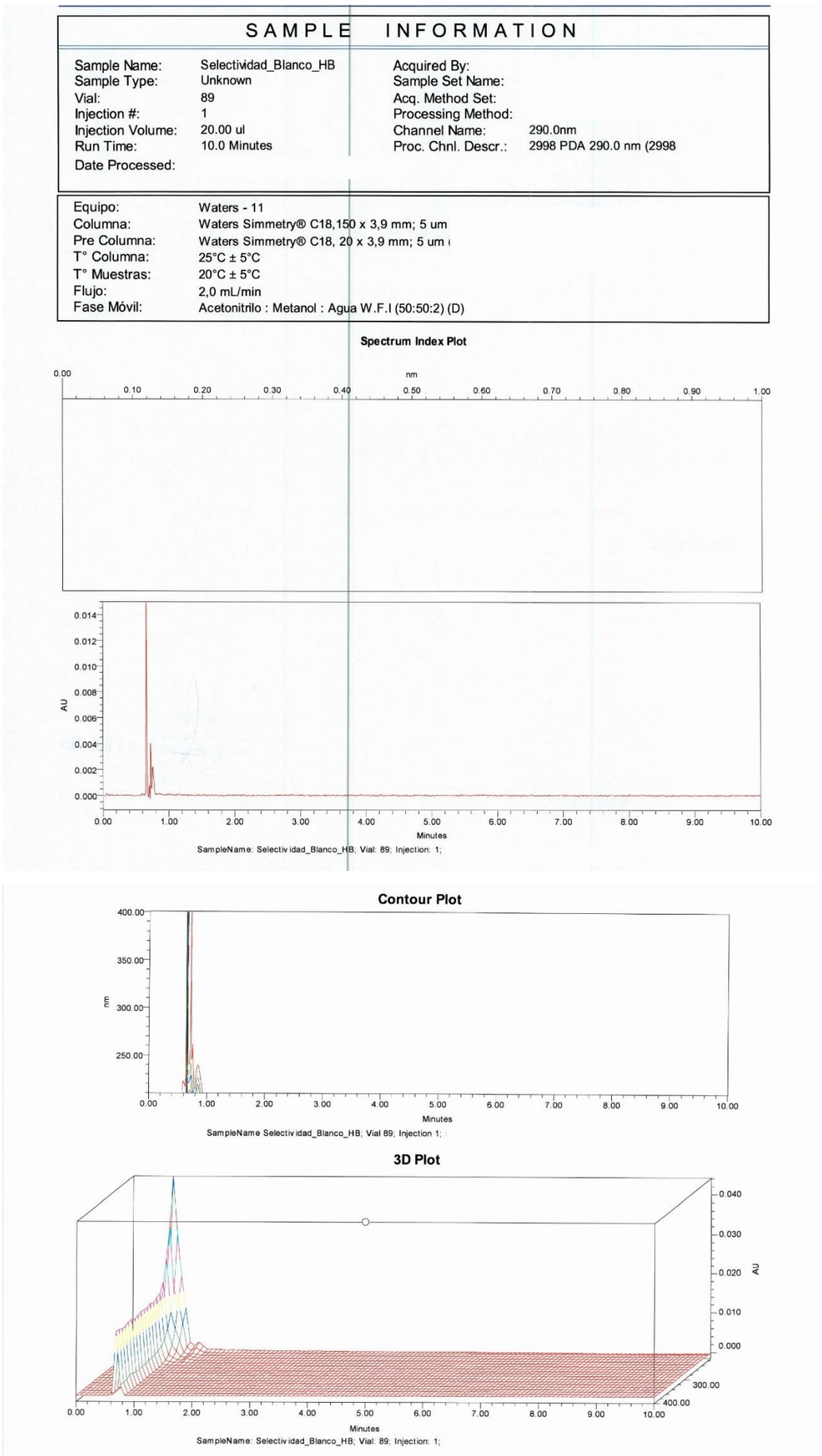
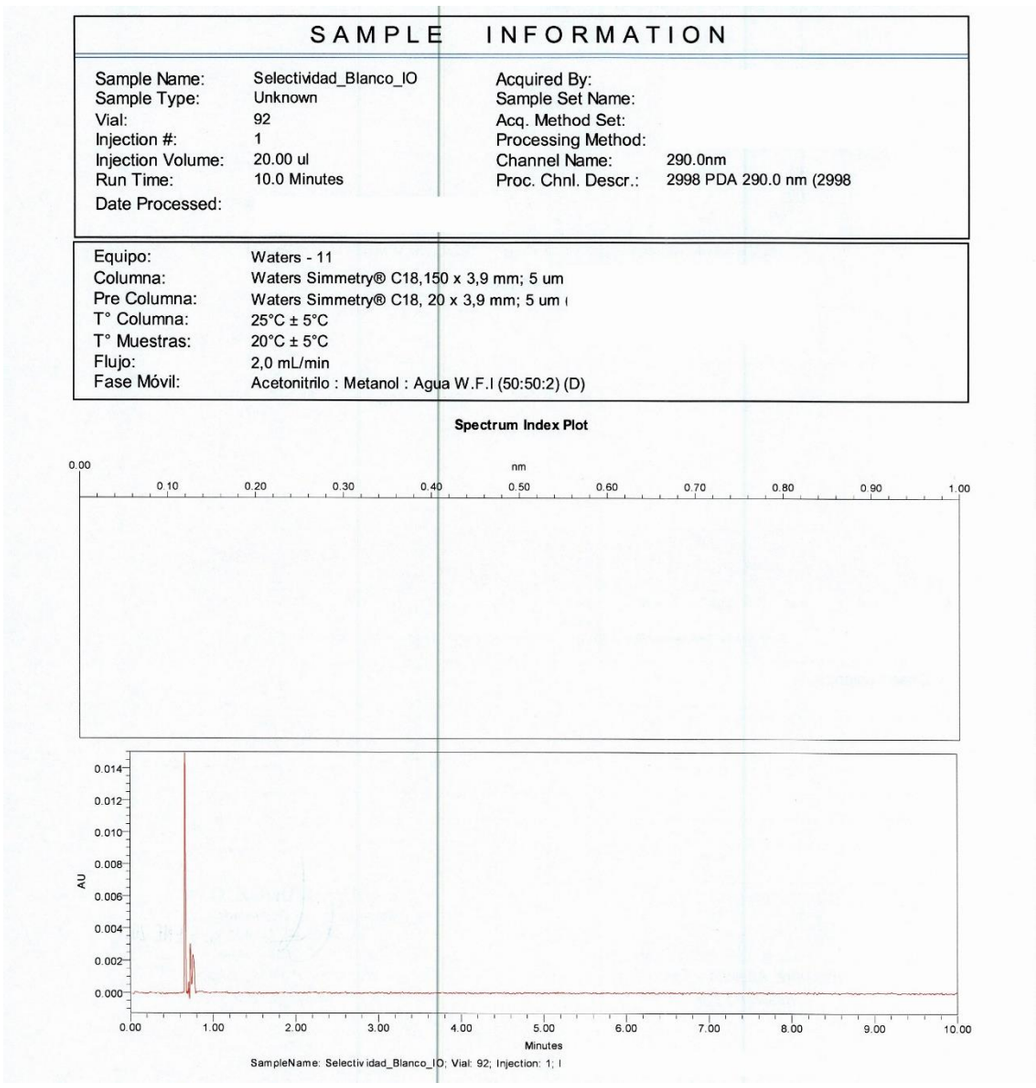


Figura C.3. Espectro - Blanco Hidrólisis Básica.



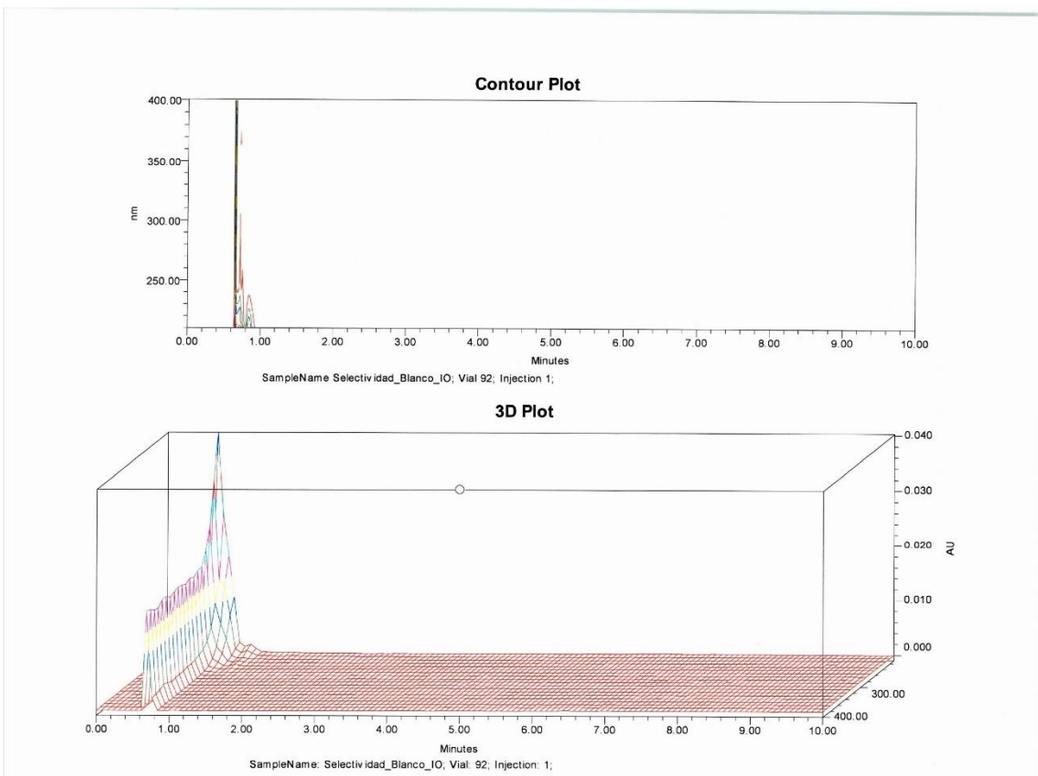
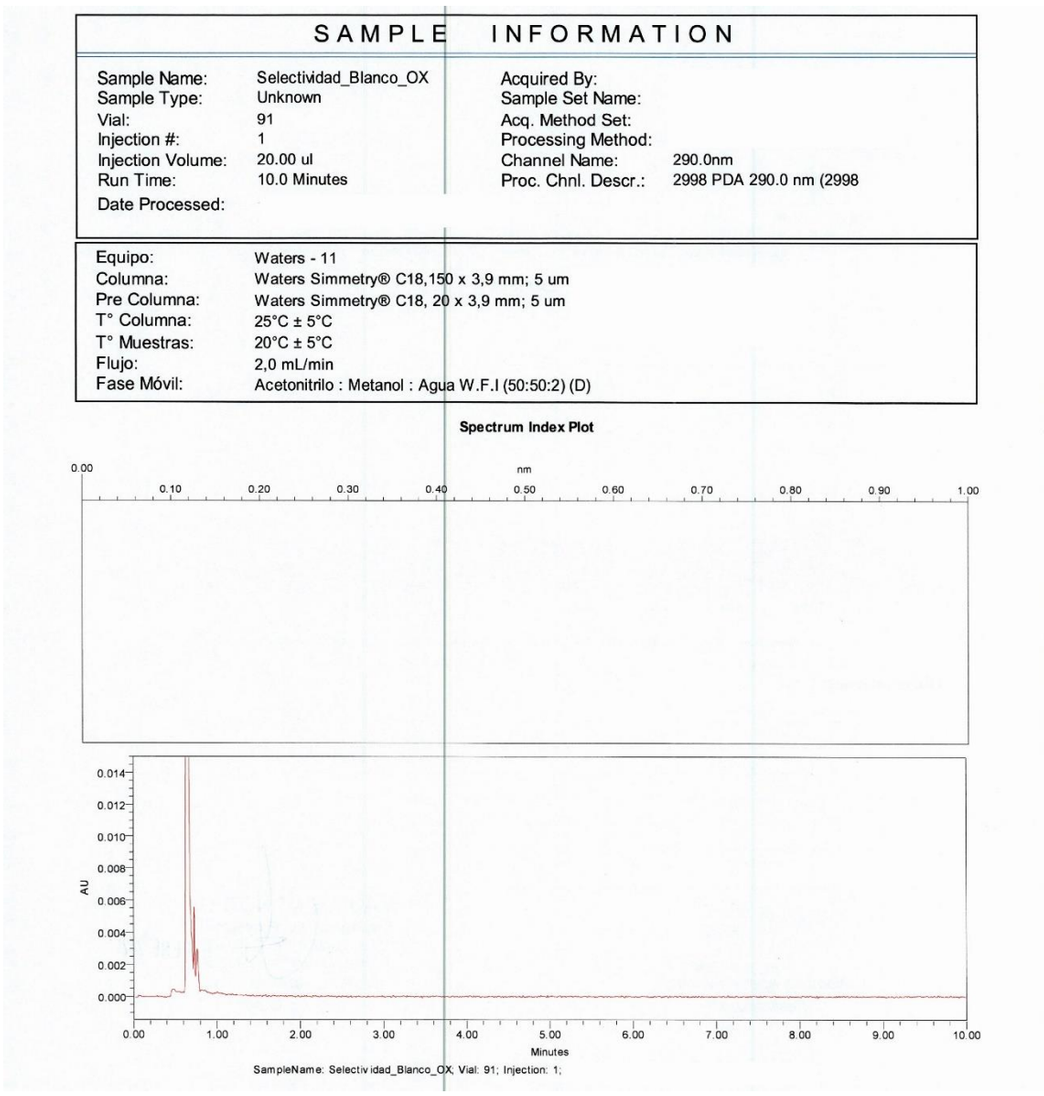


Figura C.4. Espectro - Blanco Iones Metálicos.



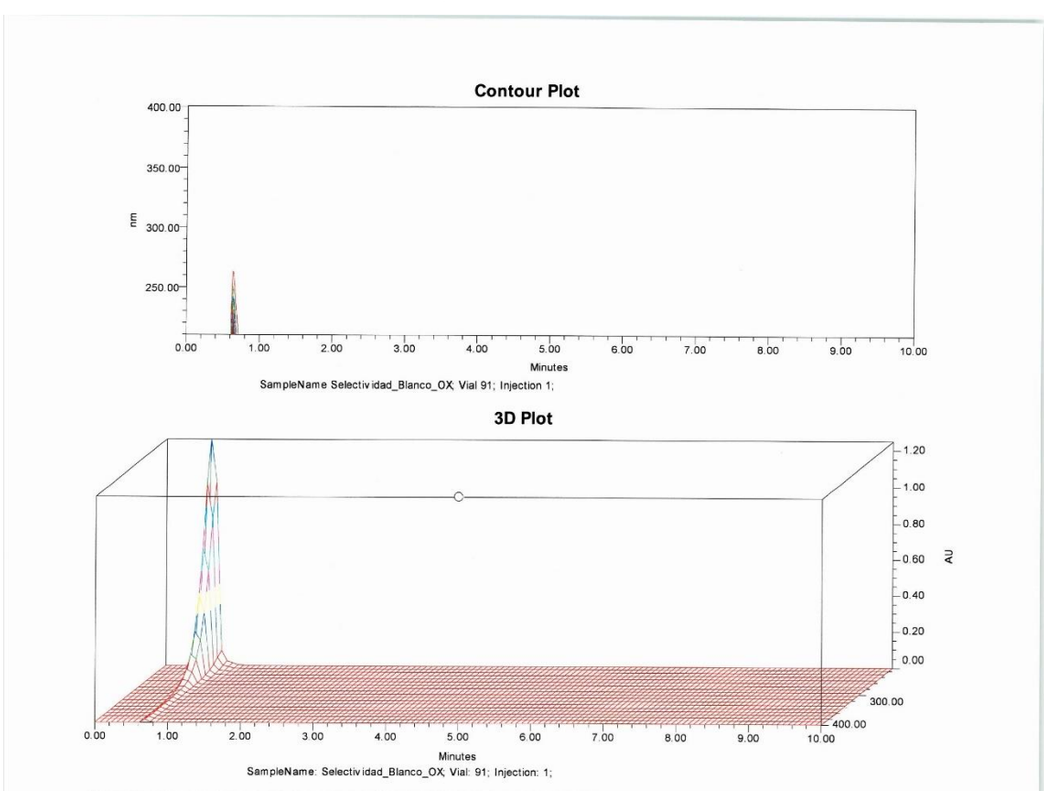
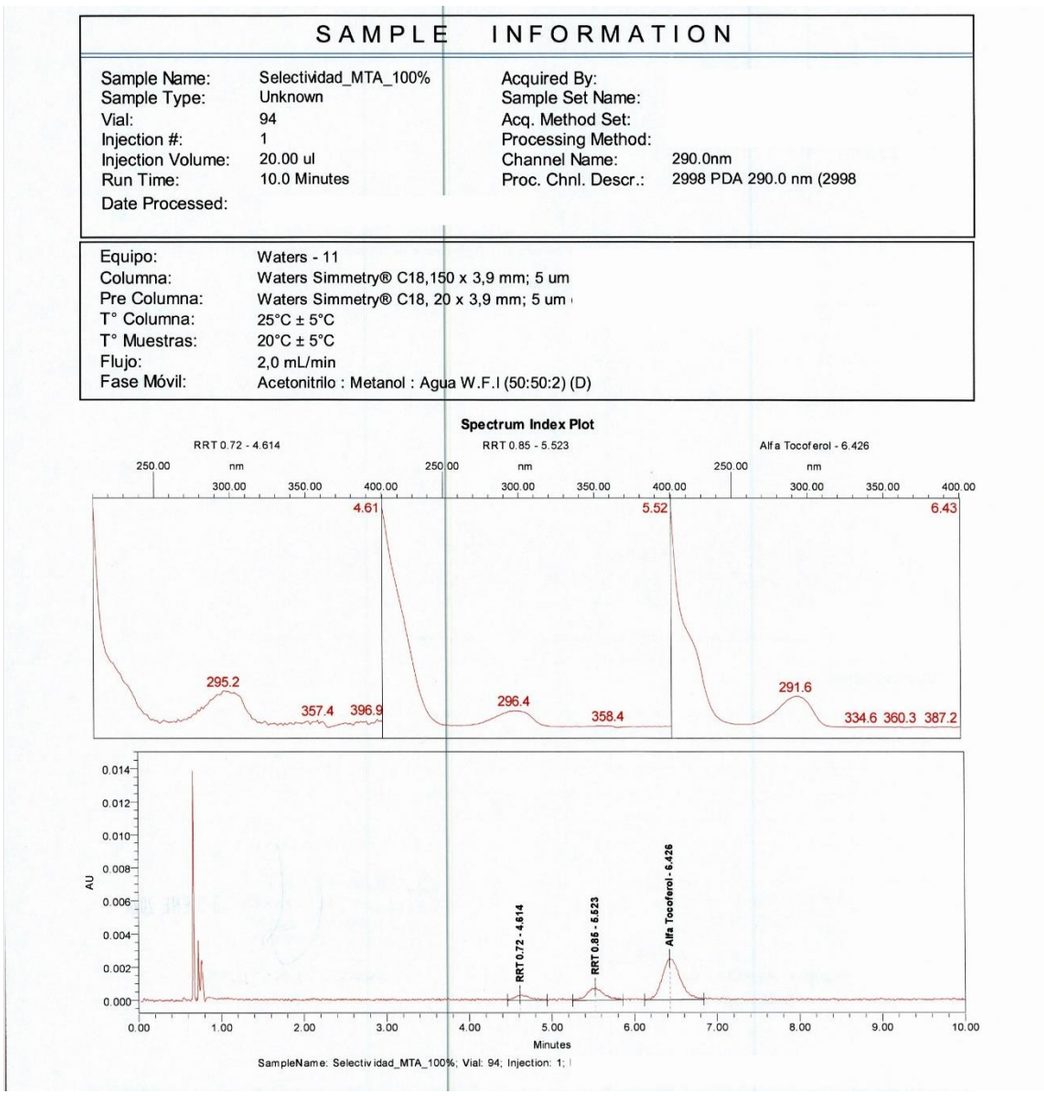


Figura C.5. Espectro - Blanco Oxidación.



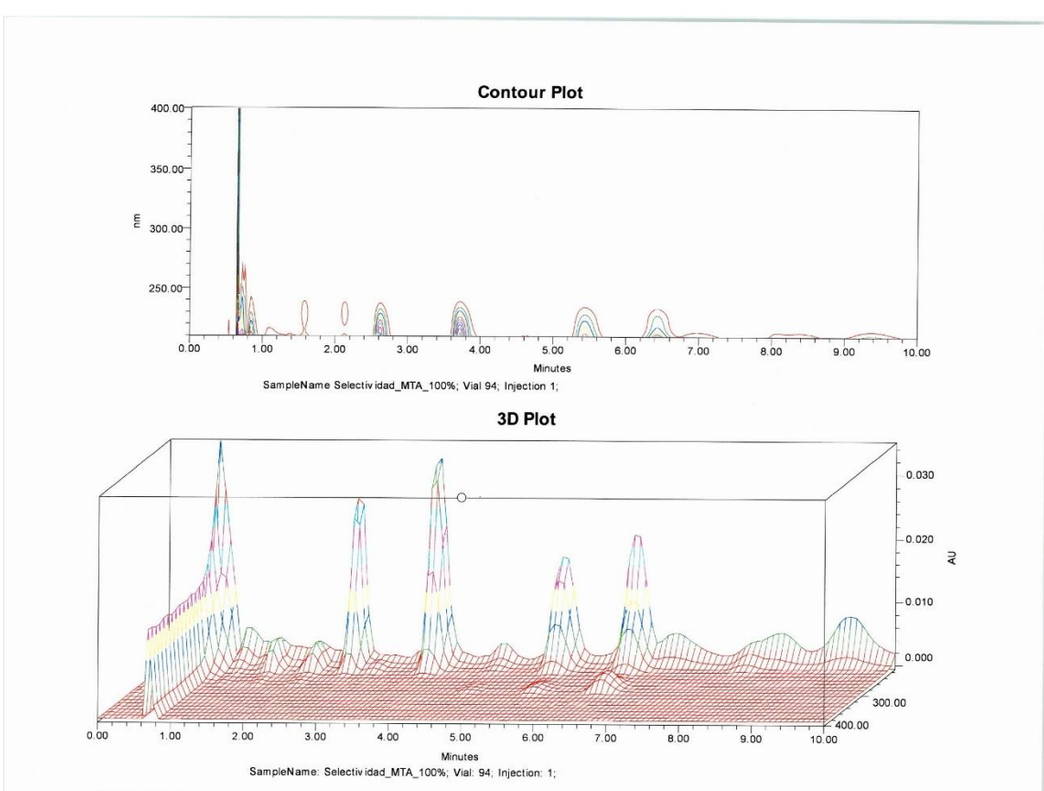


Figura C.6. Espectro – Muestra sin tratamiento.

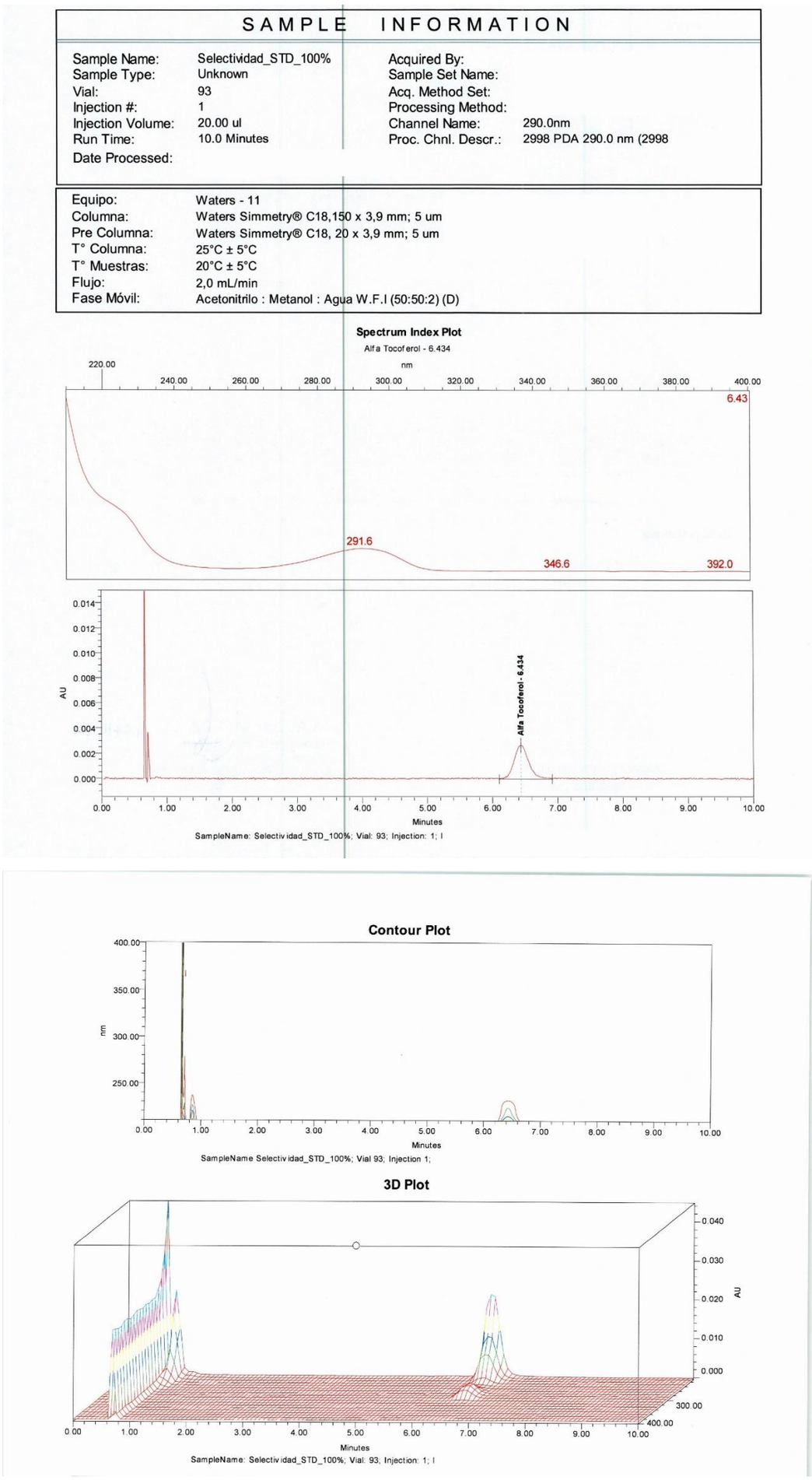


Figura C.7. Espectro – Estándar sin tratamiento.

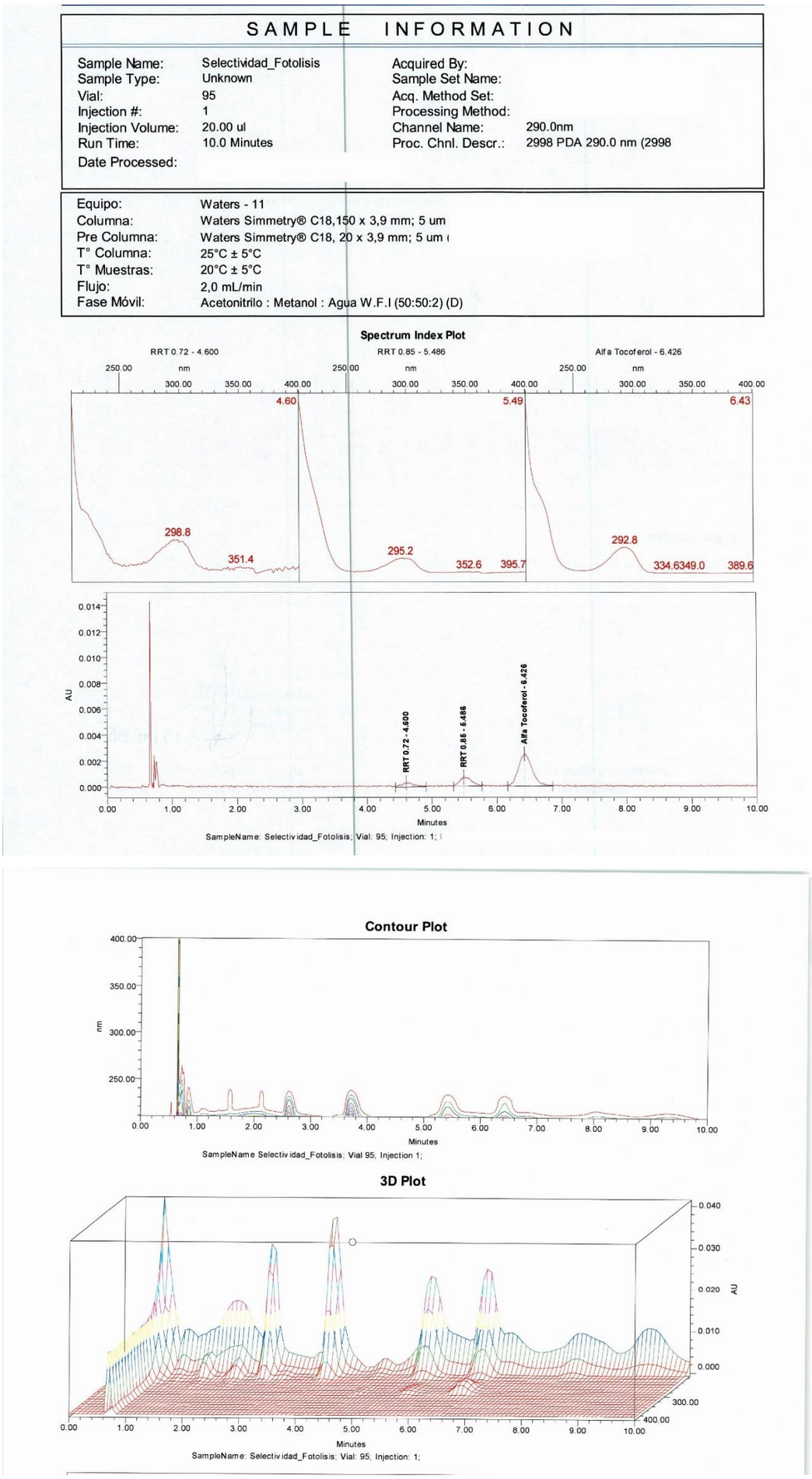


Figura C.8. Espectro - Fotólisis.

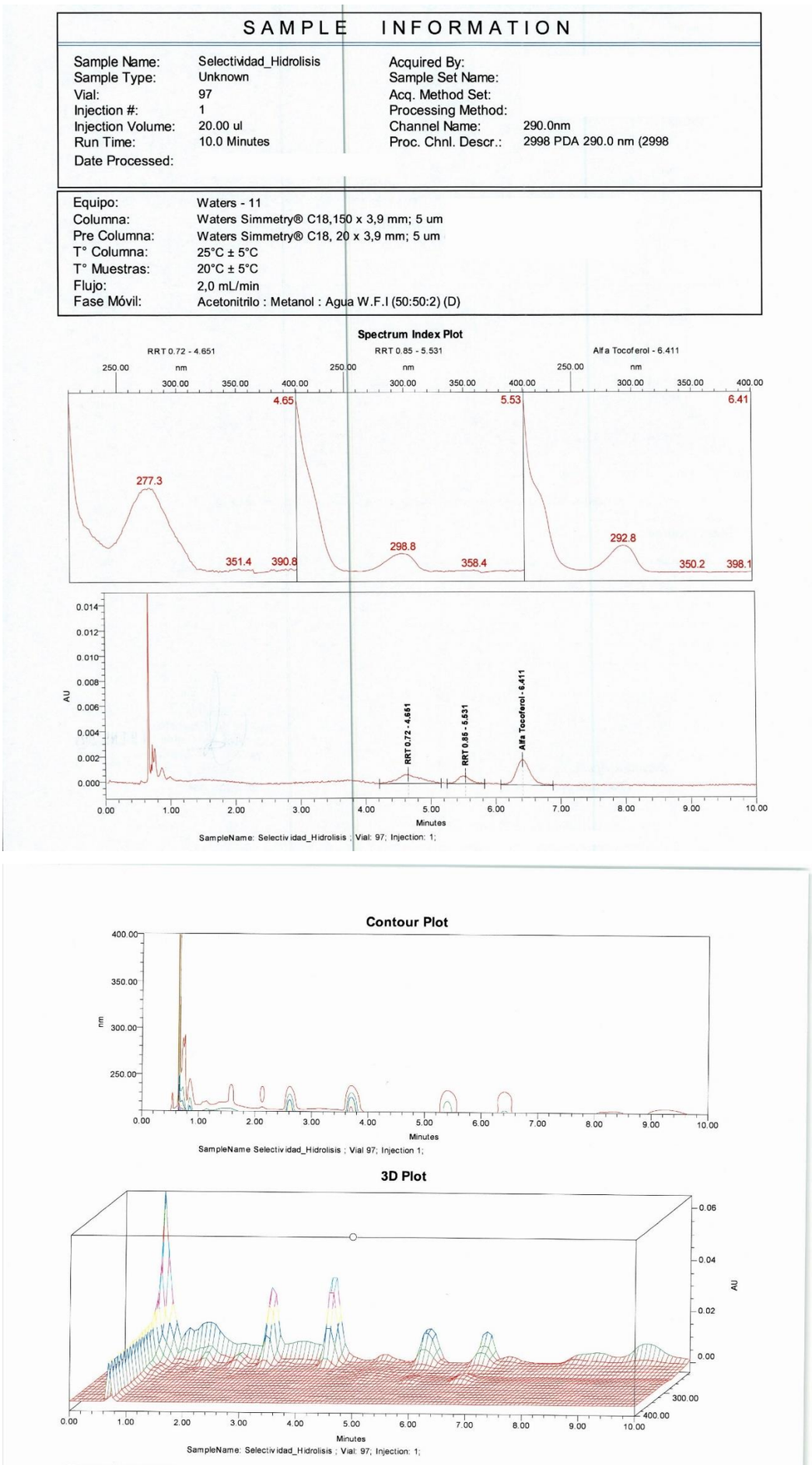
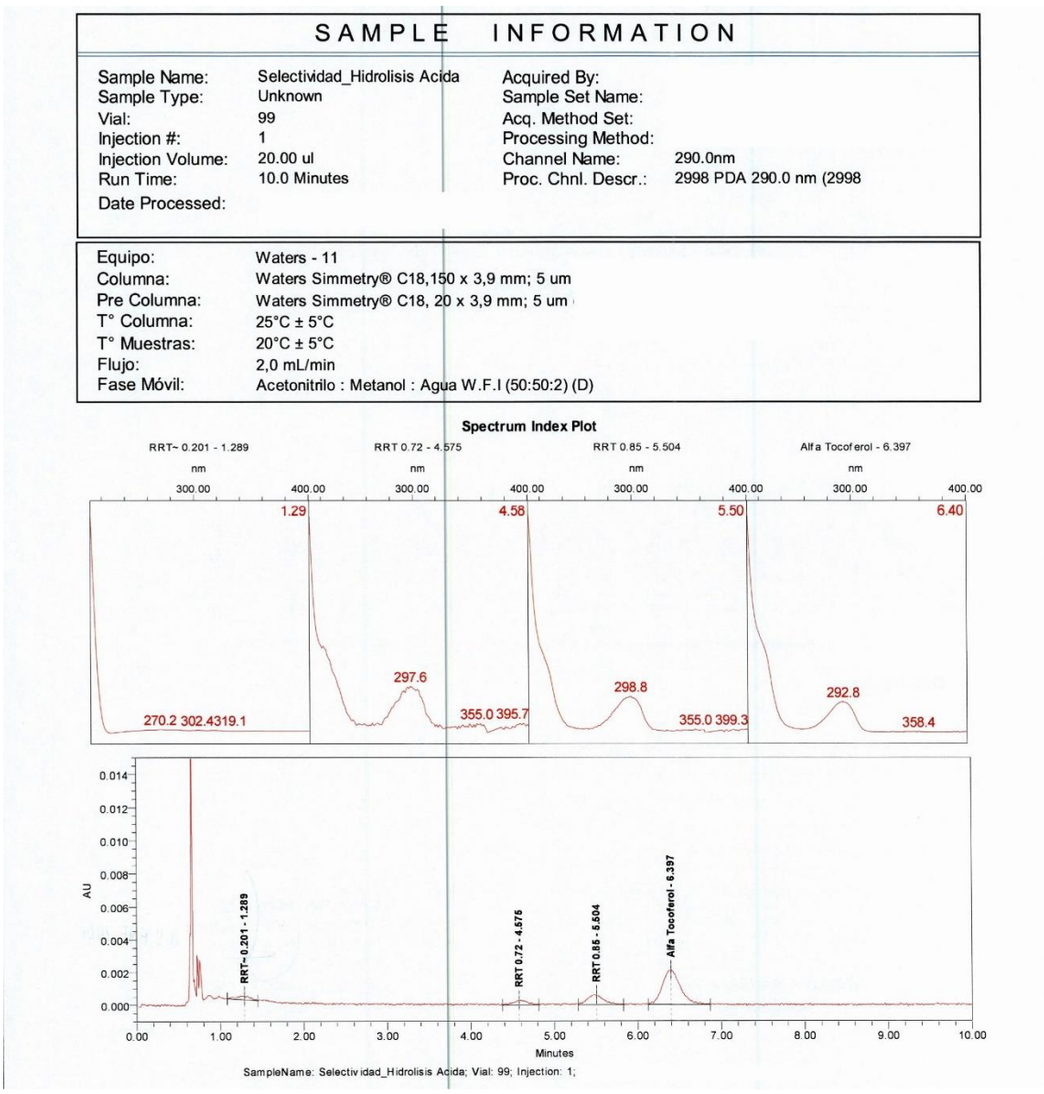


Figura C.9. Espectro - Hidrólisis.



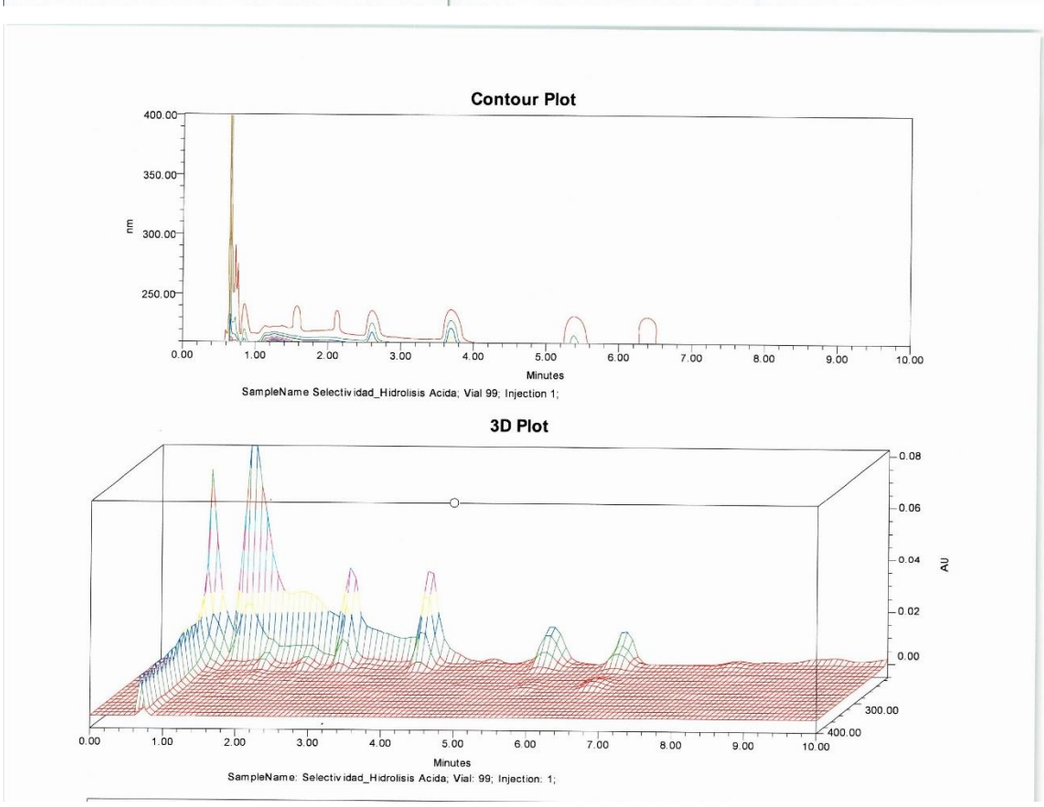


Figura C.10. Espectro - Hidrólisis Ácida.

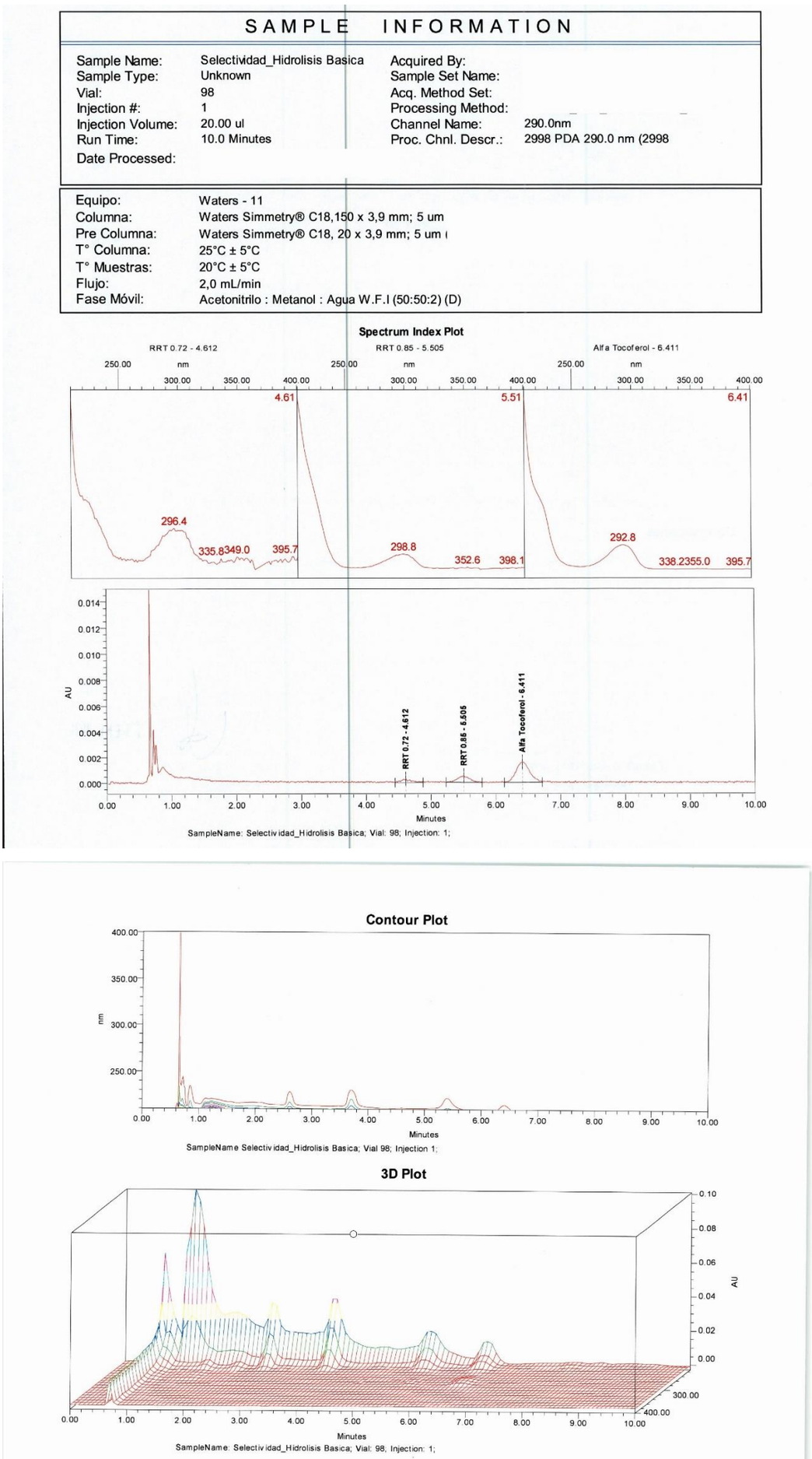
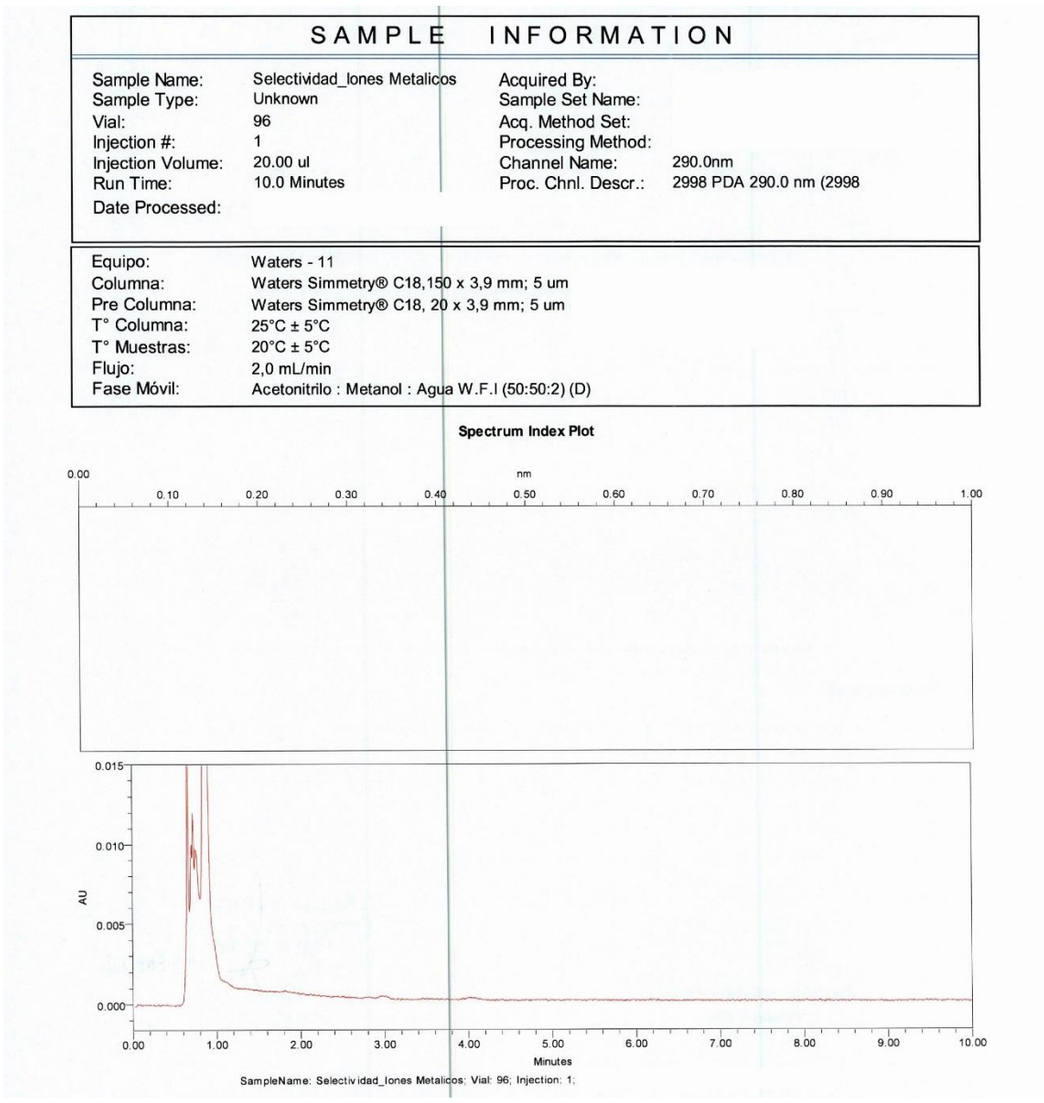


Figura C.11. Espectro - Hidrólisis Básica.



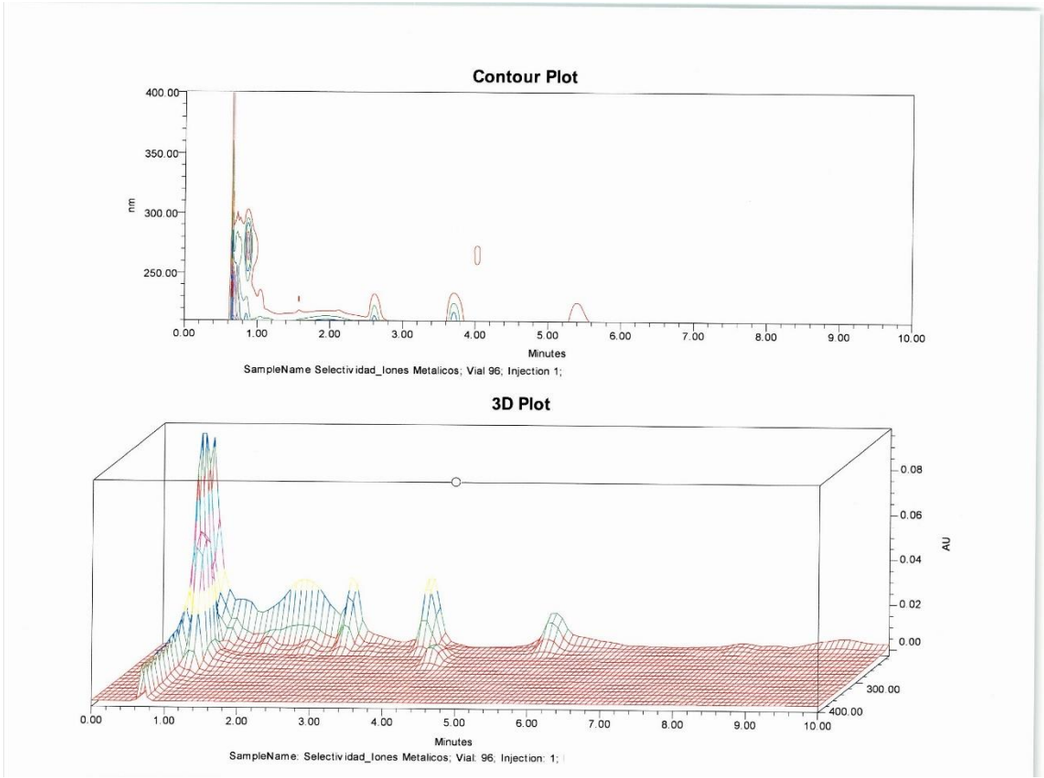


Figura C.12. Espectro – Iones Metálicos.

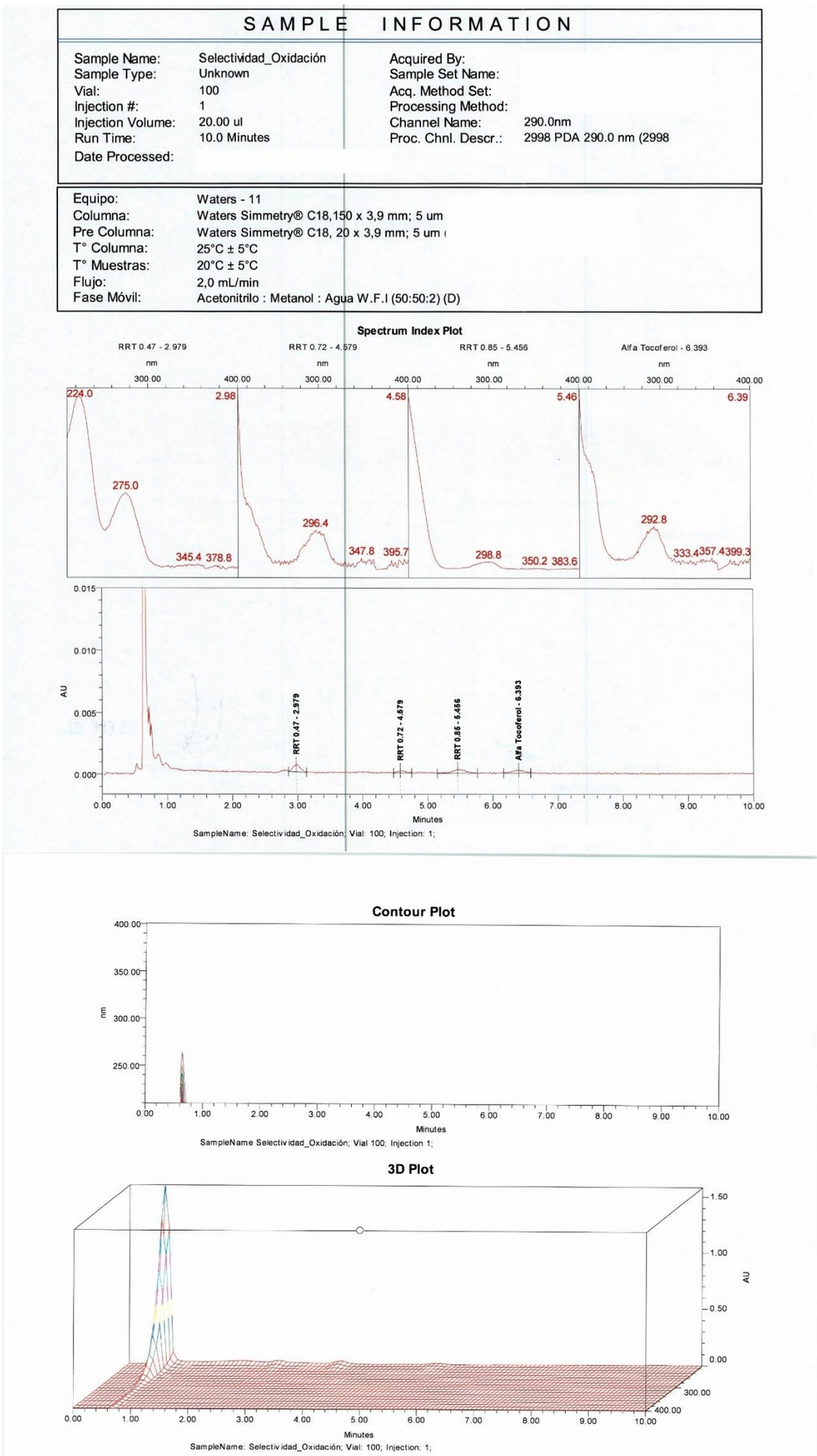
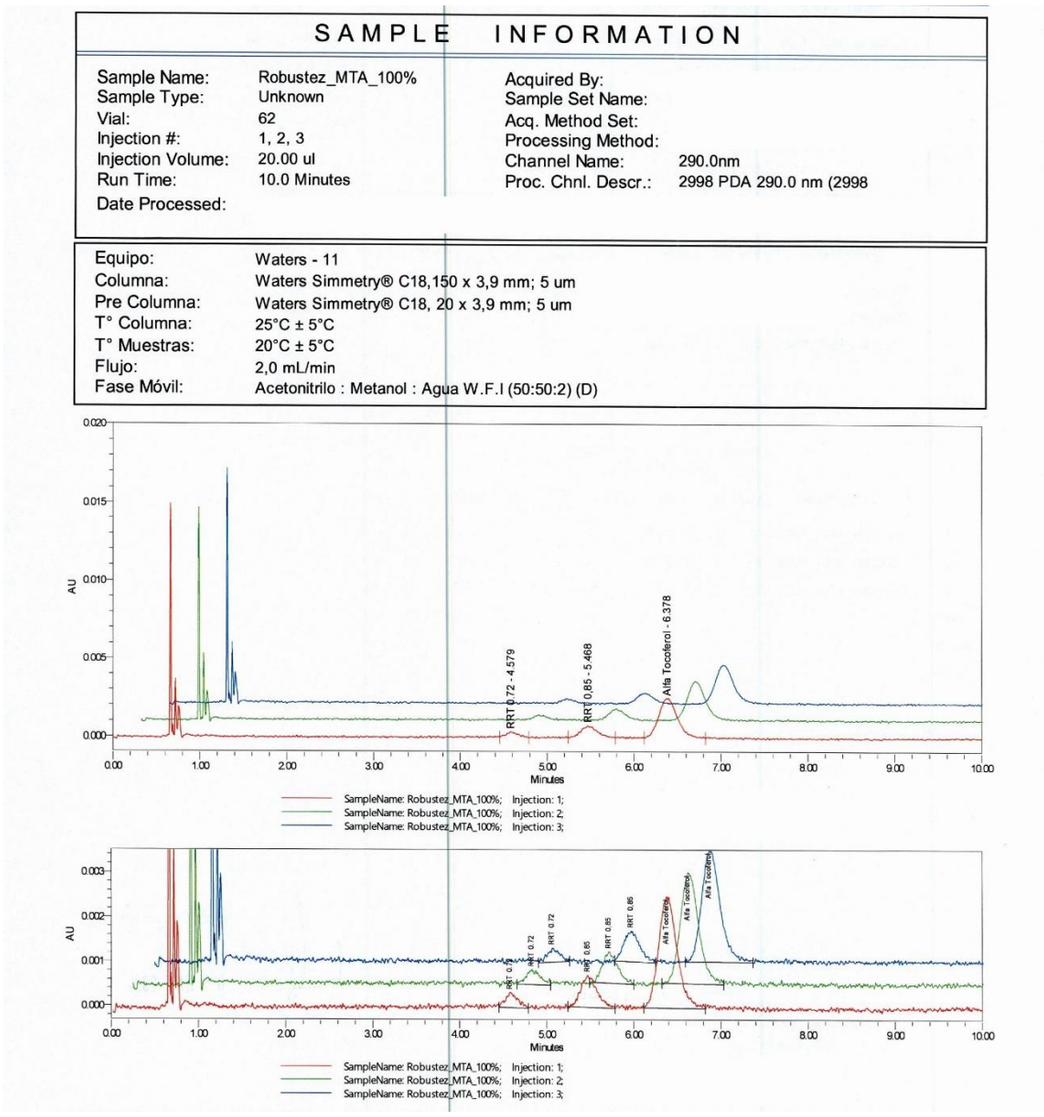


Figura C.13. Espectro – Oxidación.

ANEXO D: CROMATOGRAMAS ROBUSTEZ



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

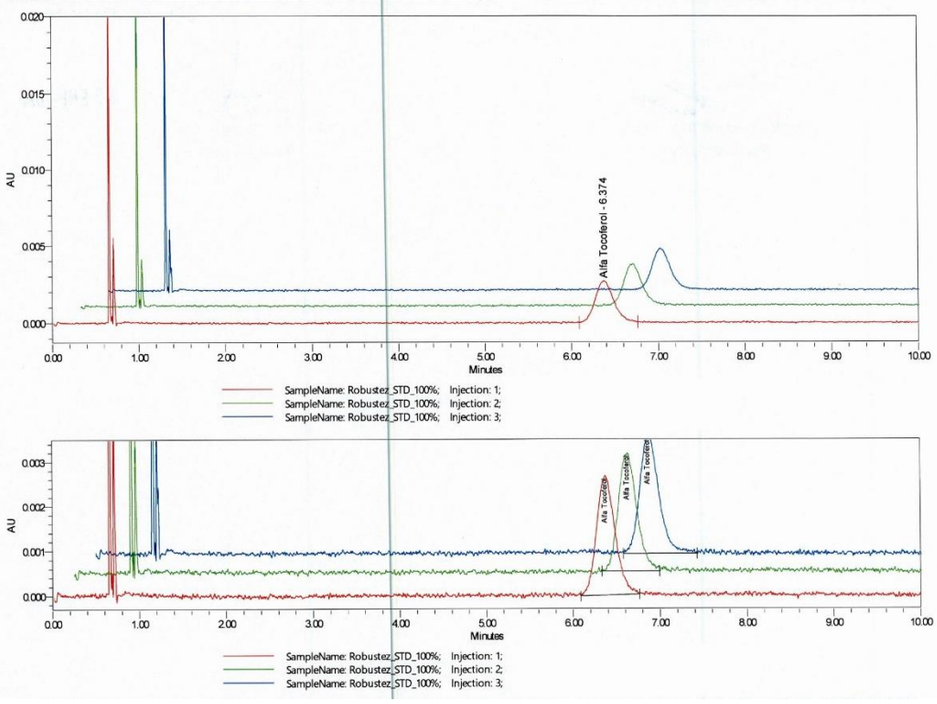
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Robustez_MTA_100%	62	1	Alfa Tocoferol	41	1.2	2.3	4397	6.4	37454
2	Robustez_MTA_100%	62	2	Alfa Tocoferol	44	1.2	2.5	4428	6.4	37083
3	Robustez_MTA_100%	62	3	Alfa Tocoferol	41	1.3	2.4	4423	6.4	37636
Mean					42	1.3	2.4	4416	6.4	37391
Std. Dev.									0.0	282
% RSD									0.1	0.8

Figura D.1. Robustez – MTA 100%.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Robustez_STD_100%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	61	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

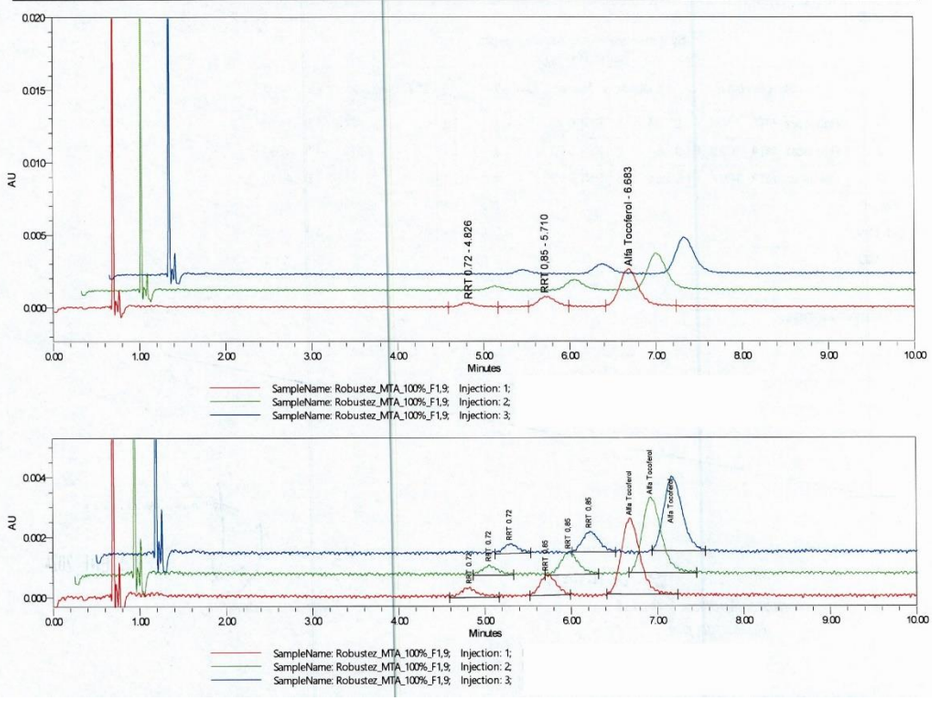
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Plate Count	RT	Area
1	Robustez_STD_100%	61	1	Alfa Tocoferol	46	1.1	4227	6.4	39823
2	Robustez_STD_100%	61	2	Alfa Tocoferol	45	1.1	4508	6.4	39564
3	Robustez_STD_100%	61	3	Alfa Tocoferol	44	1.2	4096	6.4	40851
Mean					45	1.1	4277	6.4	40080
Std. Dev.								0.0	681
% RSD								0.1	1.7

Figura D.2. Robustez – STD 100%.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Robustez_MTA_100%_F1,9	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	54	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

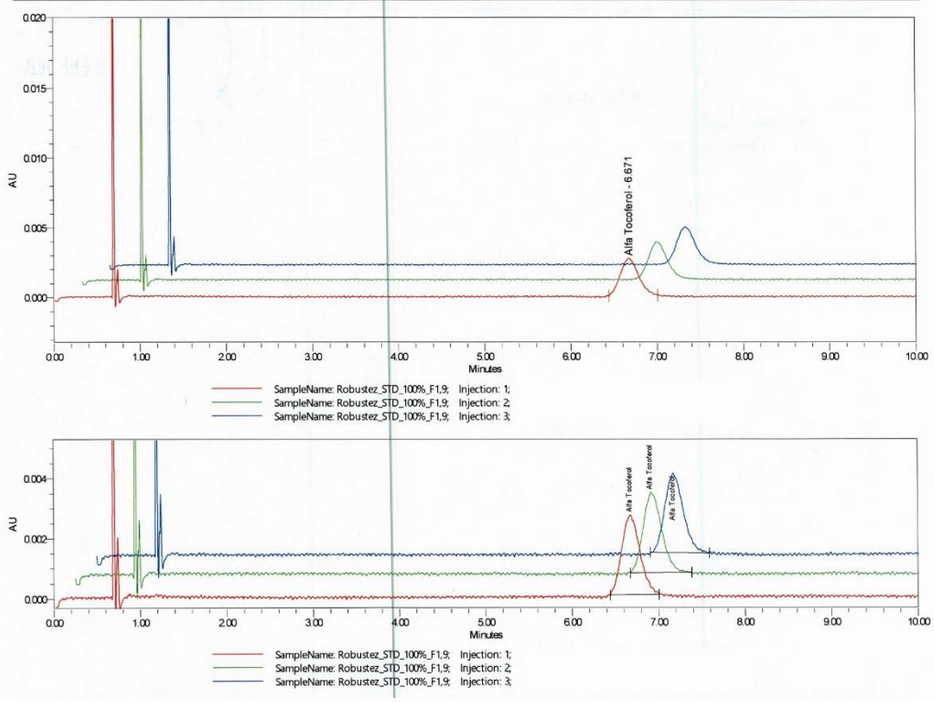
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Robustez_MTA_100%_F1,9	54	1	Alfa Tocoferol	48	1.2	2.6	4370	6.7	38100
2	Robustez_MTA_100%_F1,9	54	2	Alfa Tocoferol	45	1.2	2.4	4629	6.7	38389
3	Robustez_MTA_100%_F1,9	54	3	Alfa Tocoferol	43	1.3	2.4	4362	6.7	37050
Mean					45	1.2	2.5	4454	6.7	37846
Std. Dev.									0.0	704
% RSD									0.1	1.9

Figura D.3. Robustez – MTA a Flujo 1,9 mL/min.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Robustez_STD_100%_F1,9	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	53	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

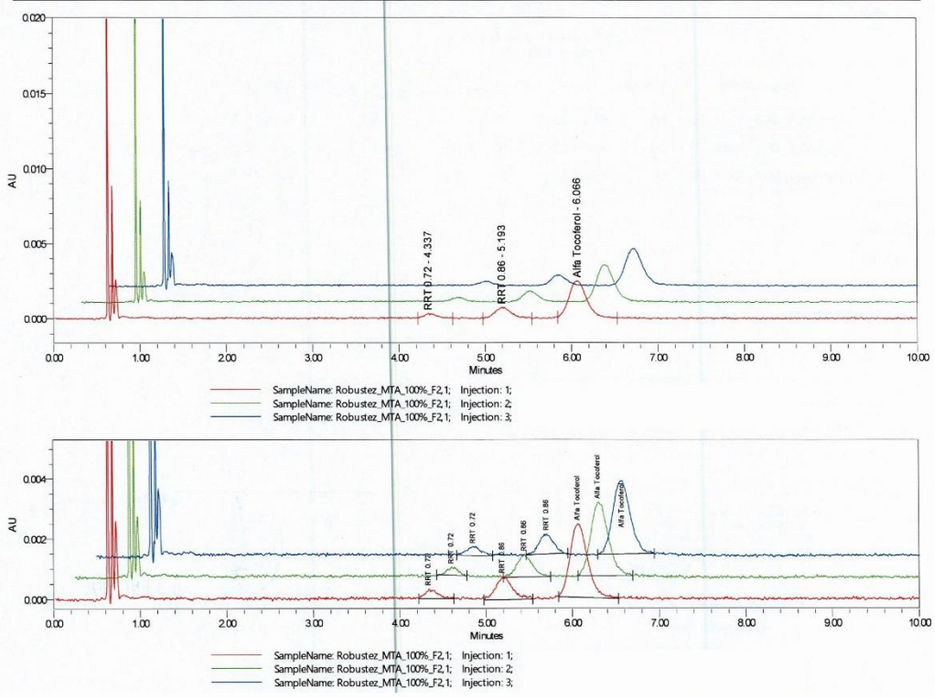
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Plate Count	RT	Area
1	Robustez_STD_100%_F1,9	53	1	Alfa Tocoferol	49	1.1	4336	6.7	38900
2	Robustez_STD_100%_F1,9	53	2	Alfa Tocoferol	48	1.2	4547	6.7	39974
3	Robustez_STD_100%_F1,9	53	3	Alfa Tocoferol	50	1.2	4505	6.7	39307
Mean					49	1.2	4463	6.7	39394
Std. Dev.								0.0	542
% RSD								0.1	1.4

Figura D.4. Robustez – STD a Flujo 1,9 mL/min.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Robustez_MTA_100%_F2,1	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	56	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

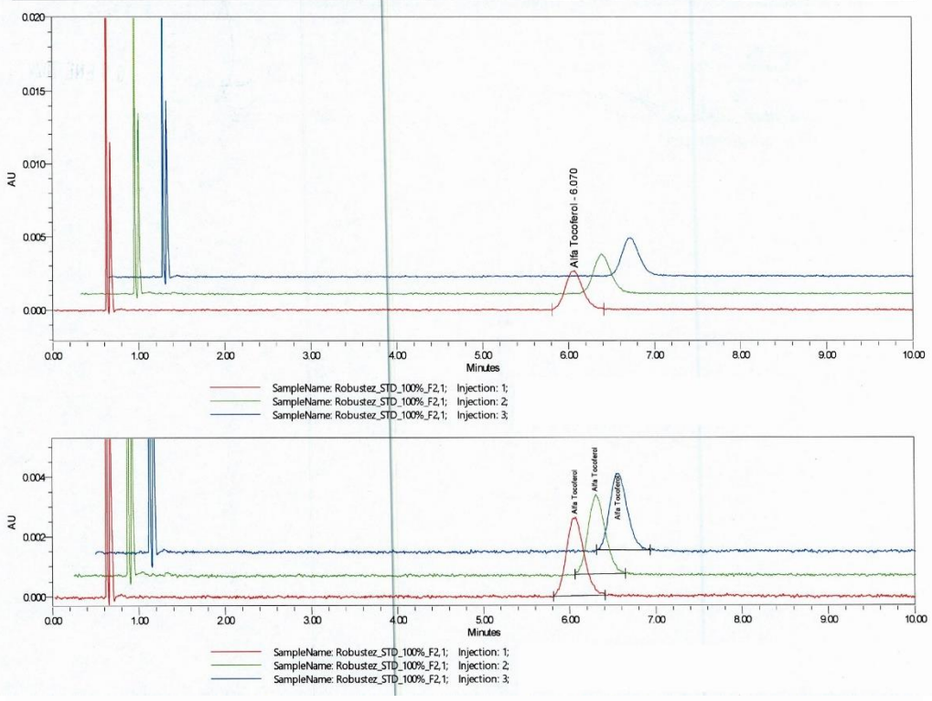
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Robustez_MTA_100%_F2,1	56	1	Alfa Tocoferol	45	1.2	2.5	4352	6.1	34538
2	Robustez_MTA_100%_F2,1	56	2	Alfa Tocoferol	55	1.2	2.3	4156	6.1	34600
3	Robustez_MTA_100%_F2,1	56	3	Alfa Tocoferol	48	1.1	2.5	4194	6.1	34871
Mean					49	1.2	2.4	4234	6.1	34669
Std. Dev.									0.0	177
% RSD									0.2	0.5

Figura D.5. Robustez – MTA a Flujo 2,1 mL/min.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Robustez_STD_100%_F2,1	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	55	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

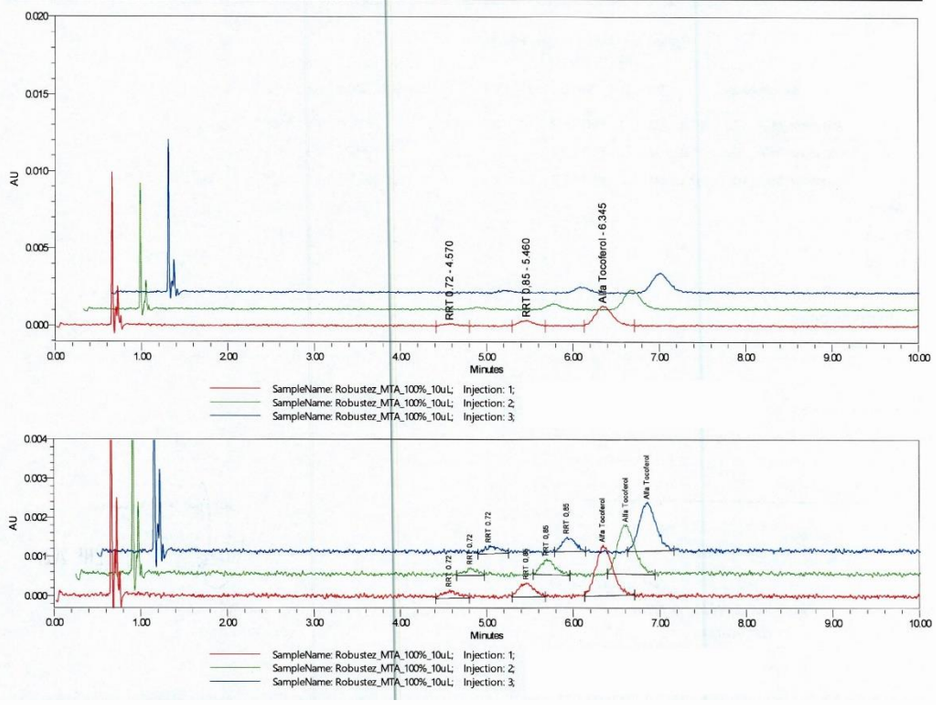
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Plate Count	RT	Area
1	Robustez_STD_100%_F2,1	55	1	Alfa Tocoferol	45	1.1	4208	6.1	37149
2	Robustez_STD_100%_F2,1	55	2	Alfa Tocoferol	44	1.1	4108	6.1	36384
3	Robustez_STD_100%_F2,1	55	3	Alfa Tocoferol	54	1.1	4203	6.1	36141
Mean					48	1.1	4173	6.1	36558
Std. Dev.								0.0	526
% RSD								0.1	1.4

Figura D.6. Robustez – STD a Flujo 2,1 mL/min.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Robustez_MTA_100%_10uL	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	50	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	10.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

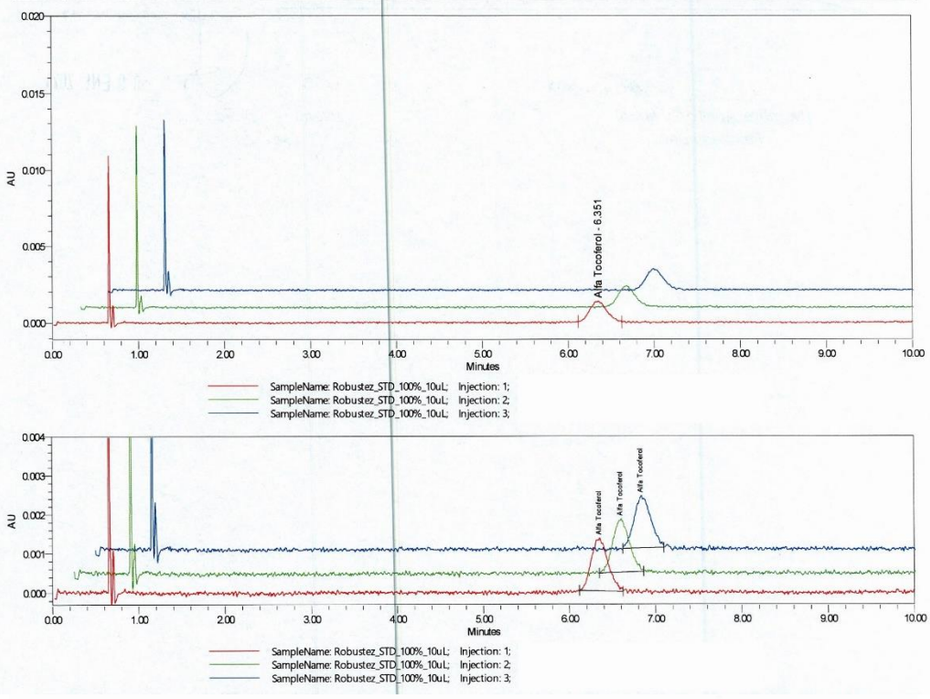
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Robustez_MTA_100%_10uL	50	1	Alfa Tocoferol	25	1.2	3.6	3947	6.3	17544
2	Robustez_MTA_100%_10uL	50	2	Alfa Tocoferol	15	1.1	13.0	56490	6.4	17595
3	Robustez_MTA_100%_10uL	50	3	Alfa Tocoferol	15	1.1	4.3	4258	6.4	17289
Mean					18	1.1	7.0	21565	6.4	17476
Std. Dev.									0.0	164
% RSD									0.2	0.9

Figura D.7. Robustez – MTA con inyección 10µL.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Robustez_STD_100%_10uL	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	49	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	10.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

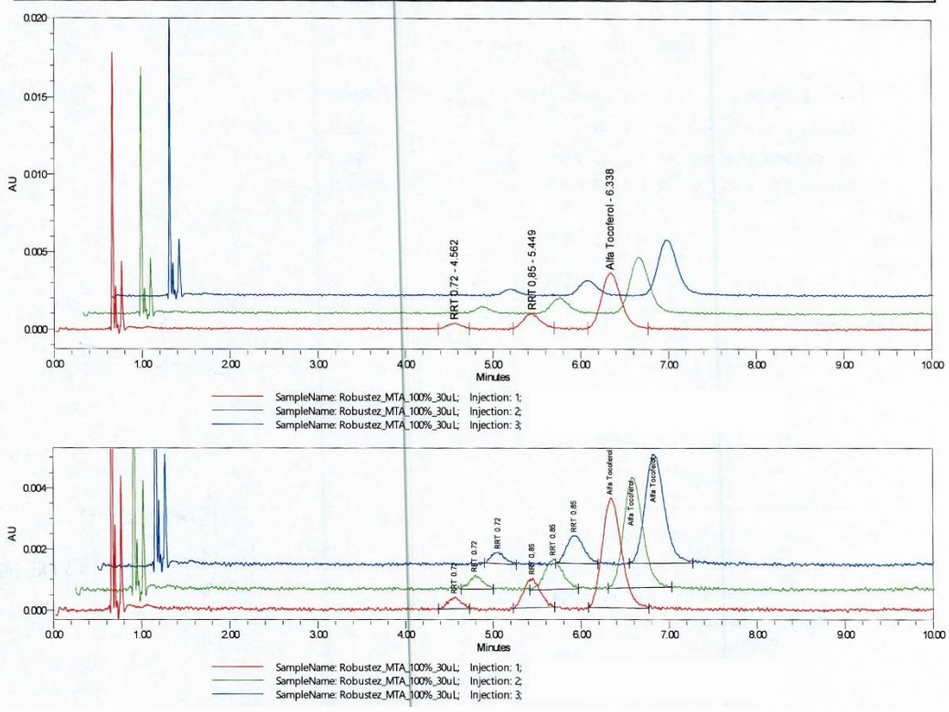
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Plate Count	RT	Area
1	Robustez_STD_100%_10uL	49	1	Alfa Tocoferol	25	1.1	4892	6.4	18117
2	Robustez_STD_100%_10uL	49	2	Alfa Tocoferol	25	1.0	4533	6.4	18118
3	Robustez_STD_100%_10uL	49	3	Alfa Tocoferol	29	1.1	4312	6.3	18283
Mean					26	1.1	4579	6.3	18173
Std. Dev.								0.0	95
% RSD								0.1	0.5

Figura D.8. Robustez – STD con inyección 10µL.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Robustez_MTA_100%_30uL	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	52	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	30.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

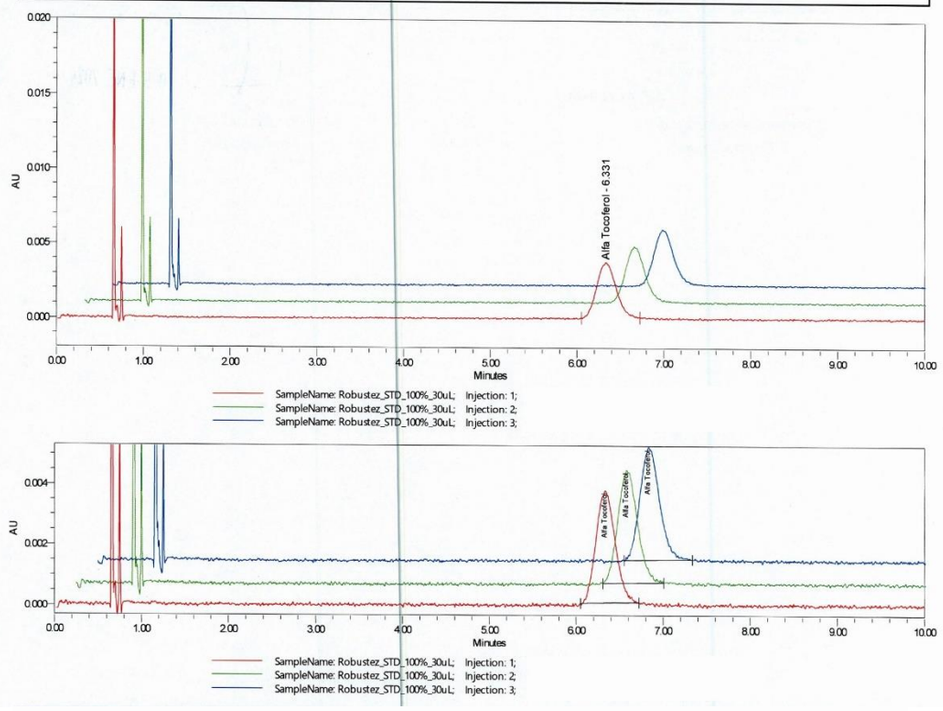
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Robustez_MTA_100%_30uL	52	1	Alfa Tocoferol	56	1.2	2.4	3889	6.3	54777
2	Robustez_MTA_100%_30uL	52	2	Alfa Tocoferol	65	1.2	2.3	3913	6.3	54848
3	Robustez_MTA_100%_30uL	52	3	Alfa Tocoferol	53	1.2	2.3	4056	6.3	55462
Mean					58	1.2	2.3	3953	6.3	55029
Std. Dev.									0.0	377
% RSD									0.1	0.7

Figura D.9. Robustez – MTA con inyección 30µL.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Robustez_STD_100%_30uL	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	51	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	30.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

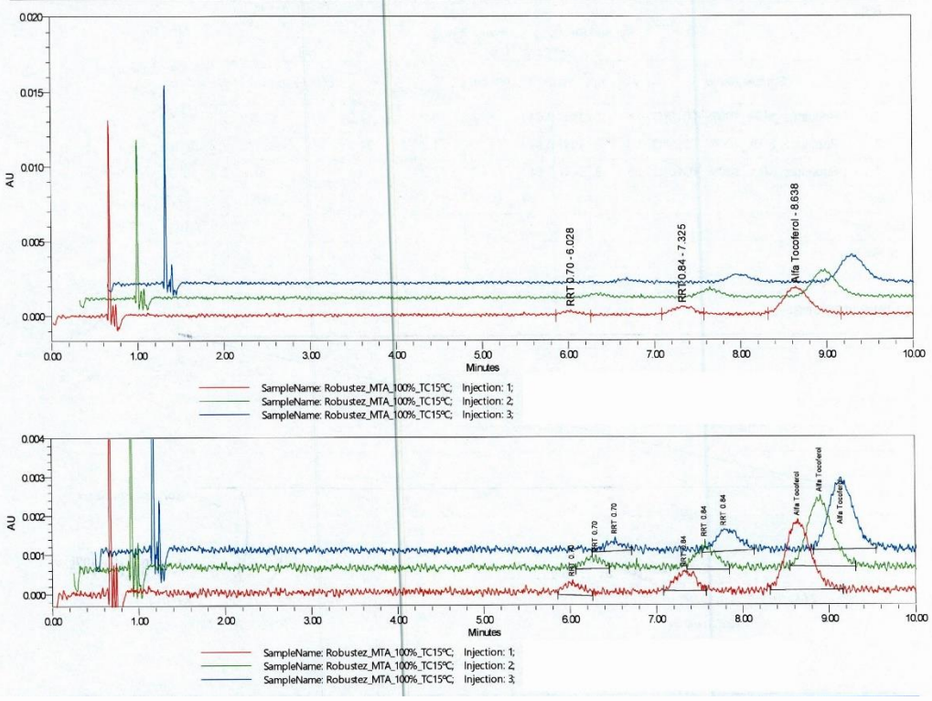
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Plate Count	RT	Area
1	Robustez_STD_100%_30uL	51	1	Alfa Tocoferol	48	1.1	3779	6.3	56862
2	Robustez_STD_100%_30uL	51	2	Alfa Tocoferol	84	1.2	3728	6.3	58614
3	Robustez_STD_100%_30uL	51	3	Alfa Tocoferol	55	1.2	3715	6.3	59264
Mean					62	1.2	3741	6.3	58247
Std. Dev.								0.0	1242
% RSD								0.0	2.1

Figura D.10. Robustez – STD con inyección 30µL.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Robustez_MTA_100%_TC15ºC	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	58	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

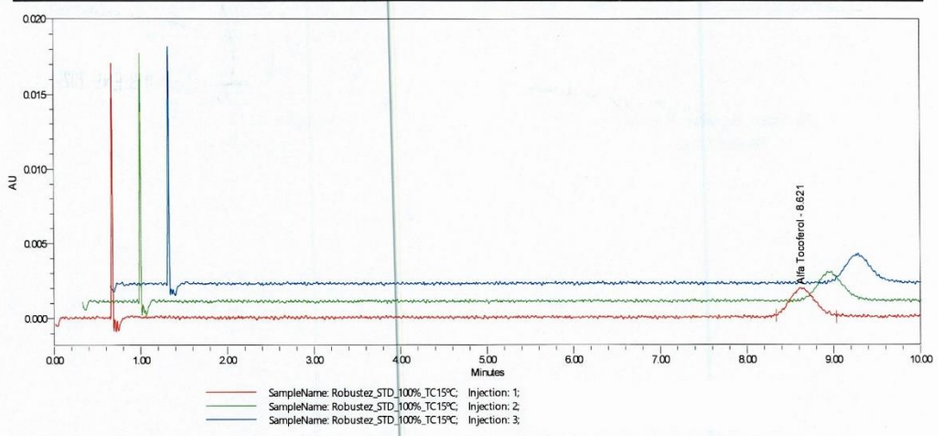
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Robustez_MTA_100%_TC15ºC	58	1	Alfa Tocoferol	16	1.0	4.6	5563	8.6	36199
2	Robustez_MTA_100%_TC15ºC	58	2	Alfa Tocoferol	14	1.1	4.2	4082	8.7	35087
3	Robustez_MTA_100%_TC15ºC	58	3	Alfa Tocoferol	13	1.1	2.5	4185	8.6	36370
Mean					14	1.1	3.7	4610	8.6	35885
Std. Dev.									0.0	696
% RSD									0.1	1.9

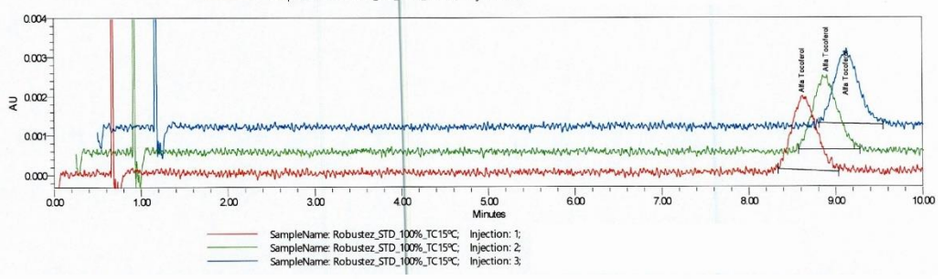
Figura D.11. Robustez – MTA con temperature columna 15°C.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Robustez_STD_100%_TC15ºC	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	57	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)





System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

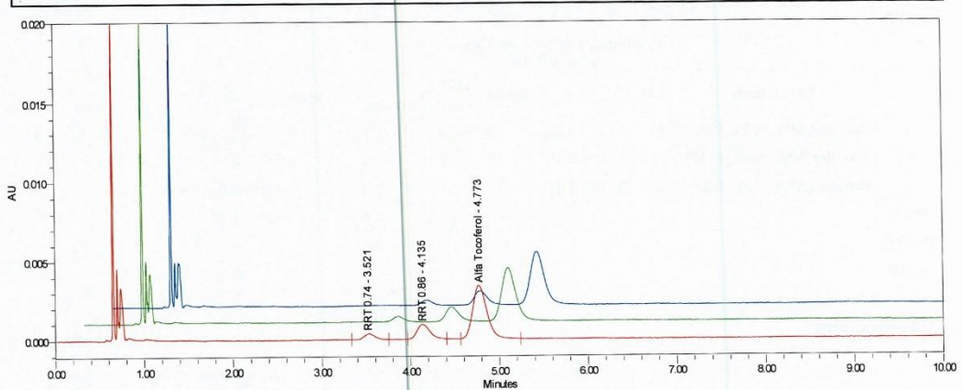
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Plate Count	RT	Area
1	Robustez_STD_100%_TC15ºC	57	1	Alfa Tocoferol	14	1.2	4222	8.6	36977
2	Robustez_STD_100%_TC15ºC	57	2	Alfa Tocoferol	17	1.0	4298	8.7	36642
3	Robustez_STD_100%_TC15ºC	57	3	Alfa Tocoferol	18	1.1	3744	8.6	36573
Mean					16	1.1	4088	8.6	36731
Std. Dev.								0.0	216
% RSD								0.2	0.6

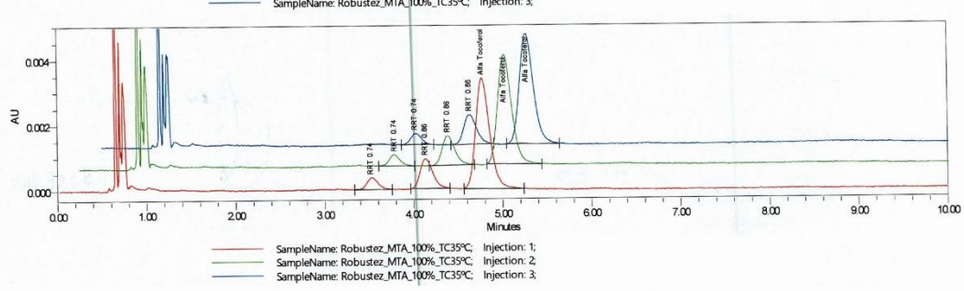
Figura D.12. Robustez – STD con temperature columna 15°C.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Robustez_MTA_100%_TC35ºC	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	60	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)





System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

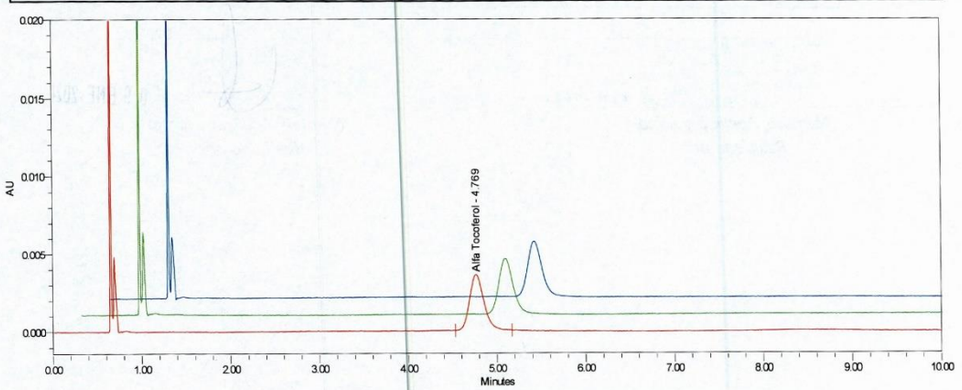
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Robustez_MTA_100%_TC35ºC	60	1	Alfa Tocoferol	204	1.2	2.3	4360	4.8	37487
2	Robustez_MTA_100%_TC35ºC	60	2	Alfa Tocoferol	312	1.2	2.3	4364	4.8	36904
3	Robustez_MTA_100%_TC35ºC	60	3	Alfa Tocoferol	285	1.2	2.3	4436	4.8	36875
Mean					267	1.2	2.3	4387	4.8	37089
Std. Dev.									0.0	345
% RSD									0.1	0.9

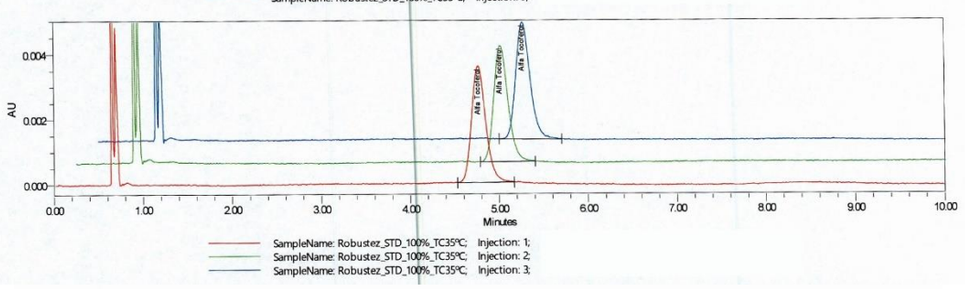
Figura D.13. Robustez – MTA con temperature columna 35°C.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Robustez_STD_100%_TC35ºC	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	59	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)





System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Plate Count	RT	Area
1	Robustez_STD_100%_TC35°C	59	1	Alfa Tocoferol	252	1.2	4254	4.8	40029
2	Robustez_STD_100%_TC35°C	59	2	Alfa Tocoferol	281	1.2	4280	4.8	39774
3	Robustez_STD_100%_TC35°C	59	3	Alfa Tocoferol	283	1.2	4195	4.8	40048
Mean					272	1.2	4243	4.8	39950
Std. Dev.								0.0	153
% RSD								0.1	0.4

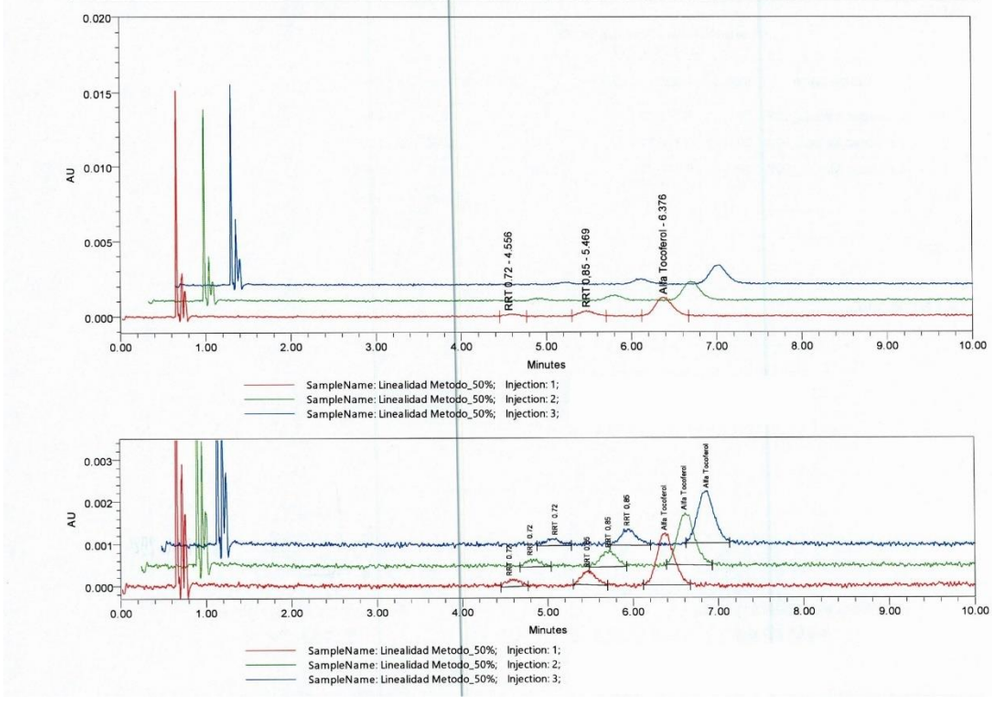
Figura D.14. Robustez – STD con temperature columna 35°C.

ANEXO E: CROMATOGRAMAS LINEALIDAD

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Linealidad Metodo_50%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	20	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

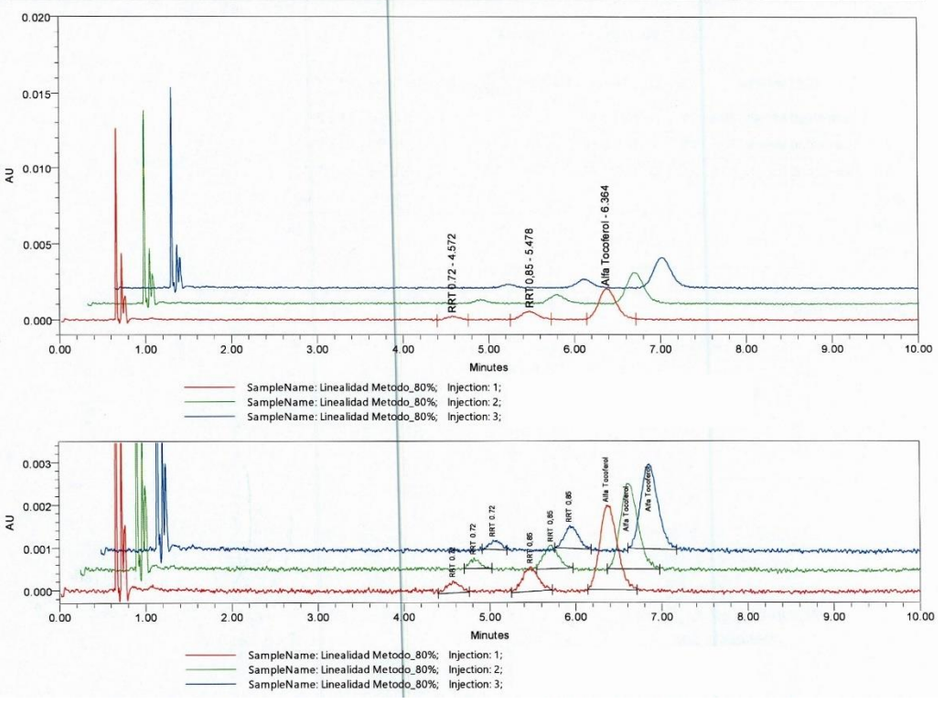
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Linealidad Metodo_50%	20	1	Alfa Tocoferol	23	1.1	3.4	3379	6.4	17475
2	Linealidad Metodo_50%	20	2	Alfa Tocoferol	22	1.2	4.2	4490	6.4	17534
3	Linealidad Metodo_50%	20	3	Alfa Tocoferol	20	1.0	4.0	4571	6.4	17182
Mean					22	1.1	3.8	4147	6.4	17397
Std. Dev.									0.0	188
% RSD									0.2	1.1

Figura E.1. Linealidad Método – MTA 50%.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Linealidad Metodo_80%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	21	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

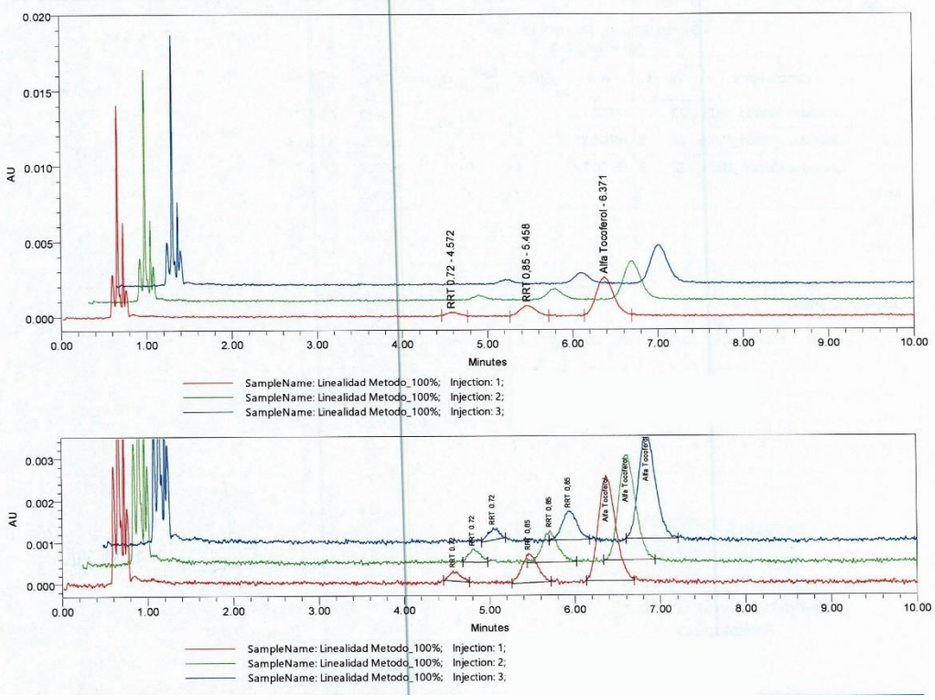
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Linealidad Metodo_80%	21	1	Alfa Tocoferol	36	1.2	2.5	4797	6.4	28047
2	Linealidad Metodo_80%	21	2	Alfa Tocoferol	39	1.2	2.3	4362	6.4	28733
3	Linealidad Metodo_80%	21	3	Alfa Tocoferol	41	1.2	2.5	4285	6.4	27758
Mean					39	1.2	2.4	4481	6.4	28179
Std. Dev.									0.0	500
% RSD									0.2	1.8

Figura E.2. Linealidad Método – MTA 80%.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Linealidad Metodo_100%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	22	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

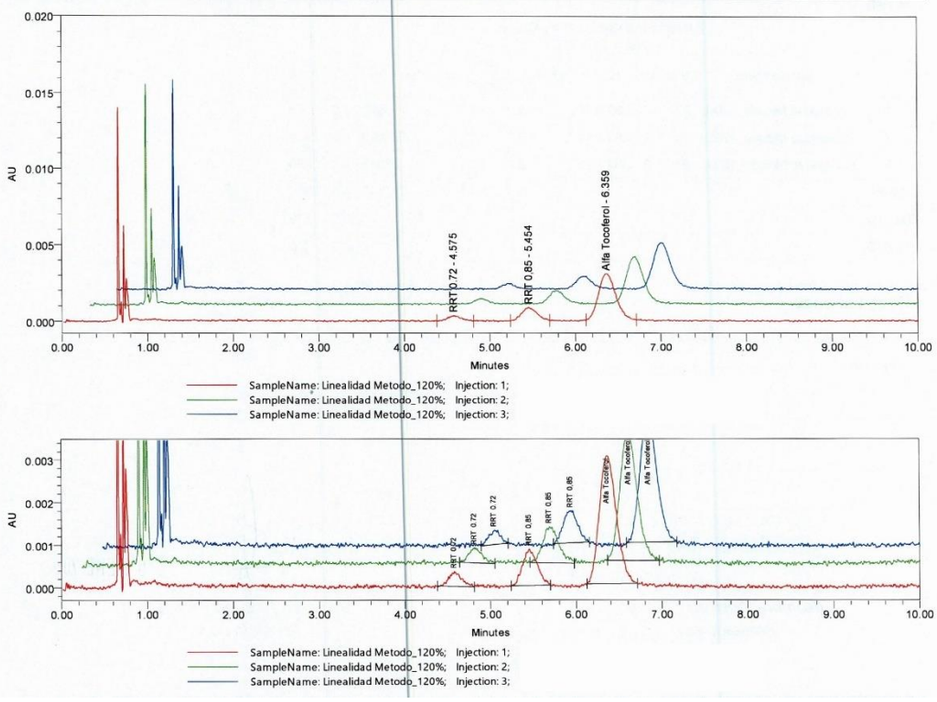
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Linealidad Metodo_100%	22	1	Alfa Tocoferol	48	1.2	2.5	4589	6.4	35241
2	Linealidad Metodo_100%	22	2	Alfa Tocoferol	48	1.1	2.5	4519	6.4	35041
3	Linealidad Metodo_100%	22	3	Alfa Tocoferol	41	1.1	2.6	4597	6.4	35227
Mean					46	1.1	2.5	4568	6.4	35170
Std. Dev.									0.0	112
% RSD									0.0	0.3

Figura E.3. Linealidad Método – MTA 100%.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Linealidad Metodo_120%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	23	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

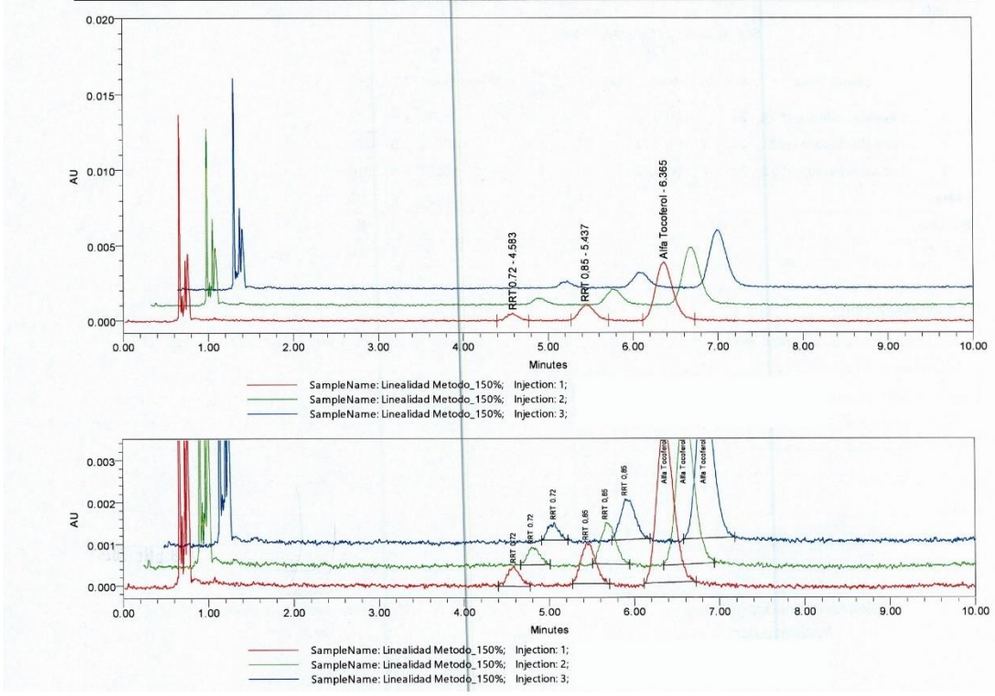
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Linealidad Metodo_120%	23	1	Alfa Tocoferol	54	1.2	2.5	4489	6.4	41772
2	Linealidad Metodo_120%	23	2	Alfa Tocoferol	50	1.1	2.6	4618	6.4	42195
3	Linealidad Metodo_120%	23	3	Alfa Tocoferol	38	1.1	2.7	4801	6.4	41500
Mean					47	1.1	2.6	4636	6.4	41822
Std. Dev.									0.0	350
% RSD									0.1	0.8

Figura E.4. Linealidad Método – MTA 120%.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Linealidad Metodo_150%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	24	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

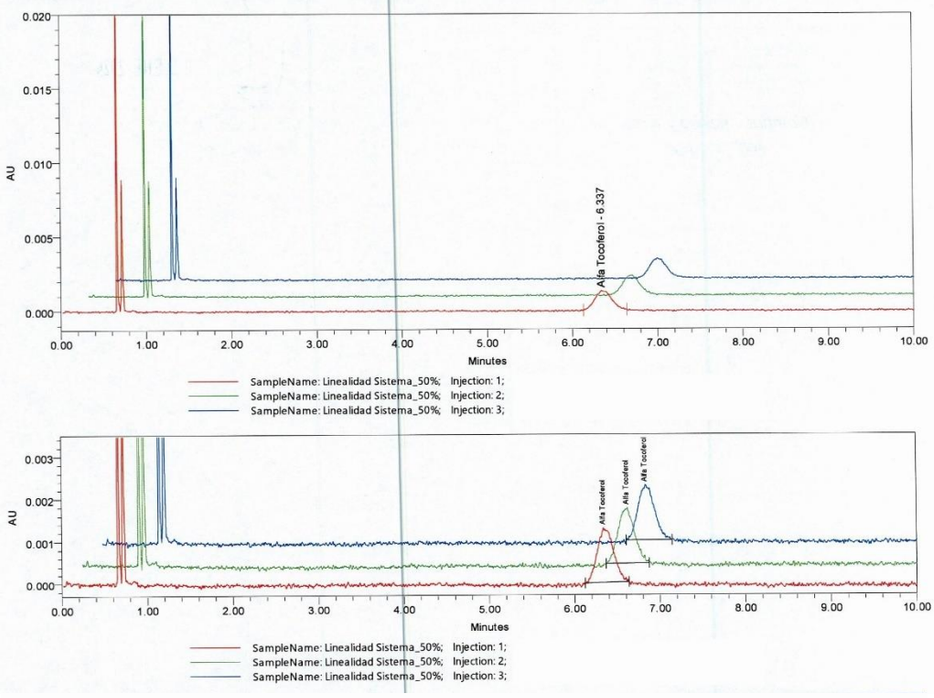
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Linealidad Metodo_150%	24	1	Alfa Tocoferol	75	1.1	2.7	4730	6.4	52342
2	Linealidad Metodo_150%	24	2	Alfa Tocoferol	71	1.2	2.6	4589	6.3	53999
3	Linealidad Metodo_150%	24	3	Alfa Tocoferol	52	1.2	2.6	4497	6.3	52535
Mean					66	1.2	2.6	4605	6.4	52958
Std. Dev.									0.0	906
% RSD									0.1	1.7

Figura E.5. Linealidad Método – MTA 150%.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Linealidad Sistema_50%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	26	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

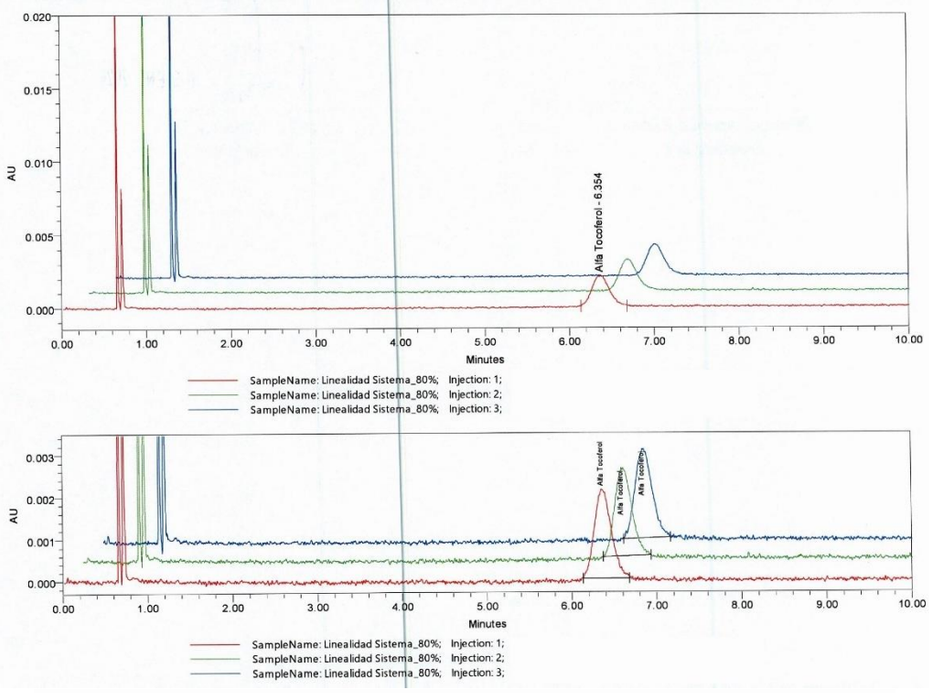
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Plate Count	RT	Area
1	Linealidad Sistema_50%	26	1	Alfa Tocoferol	18	1.2	5030	6.3	17342
2	Linealidad Sistema_50%	26	2	Alfa Tocoferol	19	1.0	5108	6.4	17602
3	Linealidad Sistema_50%	26	3	Alfa Tocoferol	24	1.1	4519	6.4	17620
Mean					20	1.1	4886	6.4	17521
Std. Dev.								0.0	155
% RSD								0.3	0.9

Figura E.6. Linealidad Sistema – STD 50%.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Linealidad Sistema_80%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	27	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

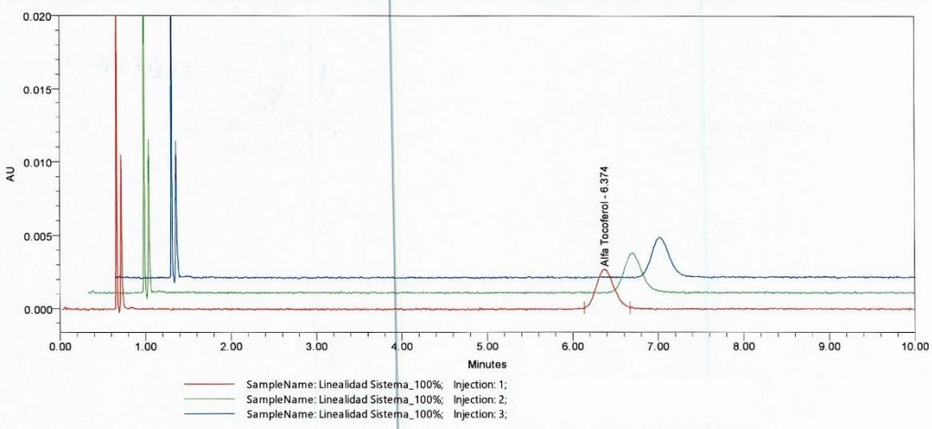
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Plate Count	RT	Area
1	Linealidad Sistema_80%	27	1	Alfa Tocoferol	37	1.1	4298	6.4	29808
2	Linealidad Sistema_80%	27	2	Alfa Tocoferol	27	1.3	4553	6.3	29327
3	Linealidad Sistema_80%	27	3	Alfa Tocoferol	34	1.2	4417	6.4	30050
Mean					33	1.2	4423	6.4	29728
Std. Dev.								0.0	368
% RSD								0.1	1.2

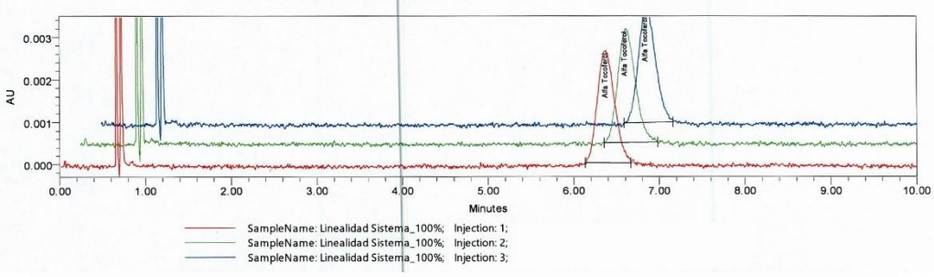
Figura E.7. Linealidad Sistema – STD 80%.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Linealidad Sistema_100%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	28	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)





System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

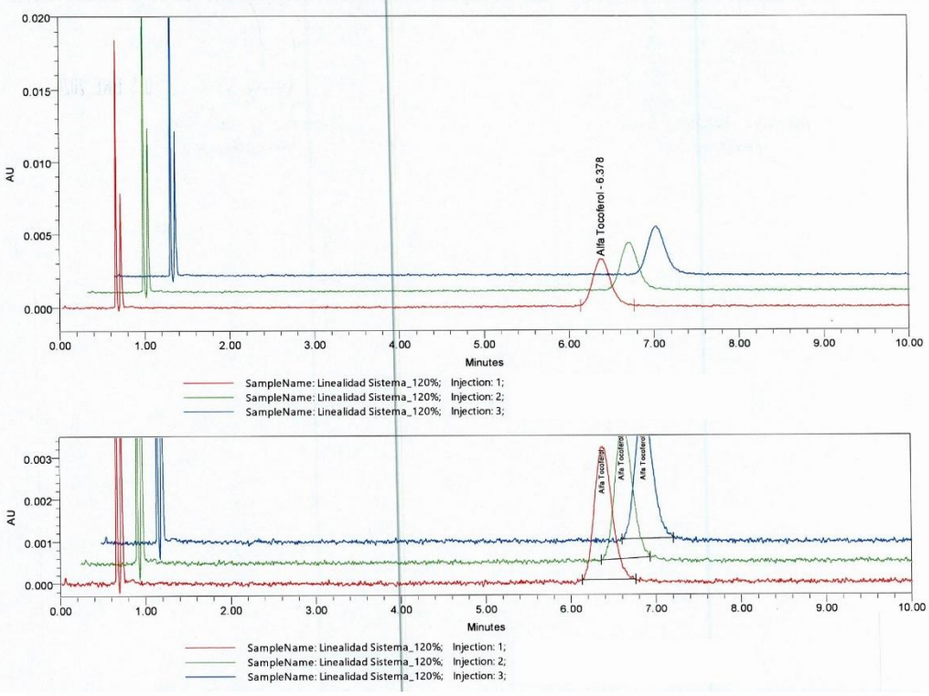
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Plate Count	RT	Area
1	Linealidad Sistema_100%	28	1	Alfa Tocoferol	49	1.1	4584	6.4	37126
2	Linealidad Sistema_100%	28	2	Alfa Tocoferol	53	1.2	4506	6.4	38462
3	Linealidad Sistema_100%	28	3	Alfa Tocoferol	55	1.1	4575	6.4	37674
Mean					52	1.1	4555	6.4	37754
Std. Dev.								0.0	672
% RSD								0.1	1.8

Figura E.8. Linealidad Sistema – STD 100%.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Linealidad Sistema_120%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	29	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

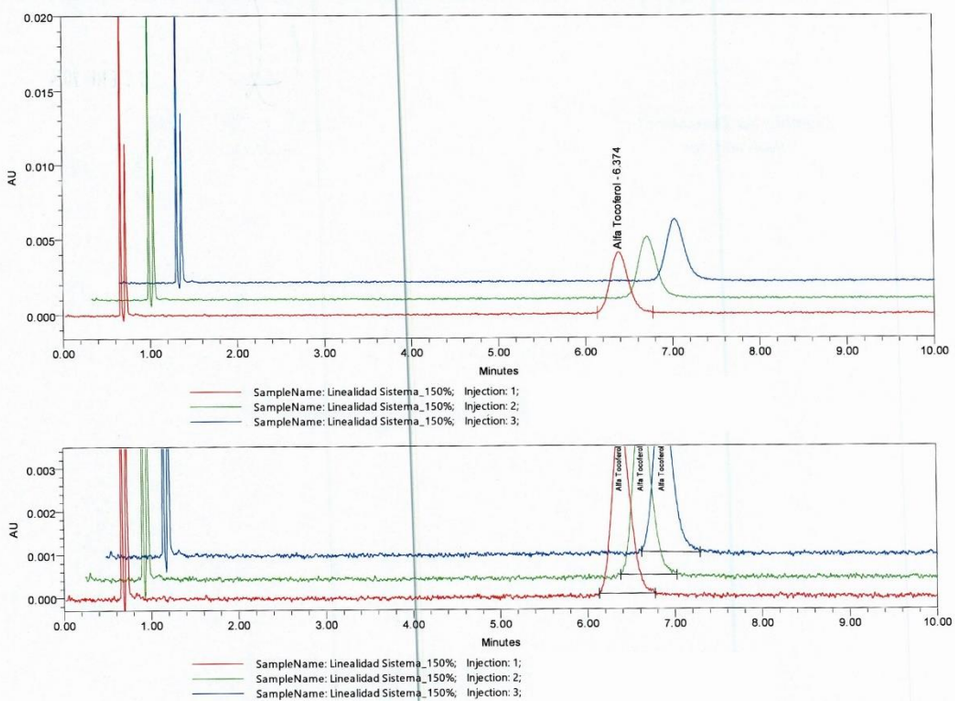
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Plate Count	RT	Area
1	Linealidad Sistema_120%	29	1	Alfa Tocoferol	53	1.2	4559	6.4	45561
2	Linealidad Sistema_120%	29	2	Alfa Tocoferol	59	1.1	4549	6.4	45373
3	Linealidad Sistema_120%	29	3	Alfa Tocoferol	49	1.1	4417	6.4	46118
Mean					53	1.1	4508	6.4	45684
Std. Dev.								0.0	387
% RSD								0.1	0.8

Figura E.9. Linealidad Sistema – STD 120%.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Linealidad Sistema_150%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	30	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)

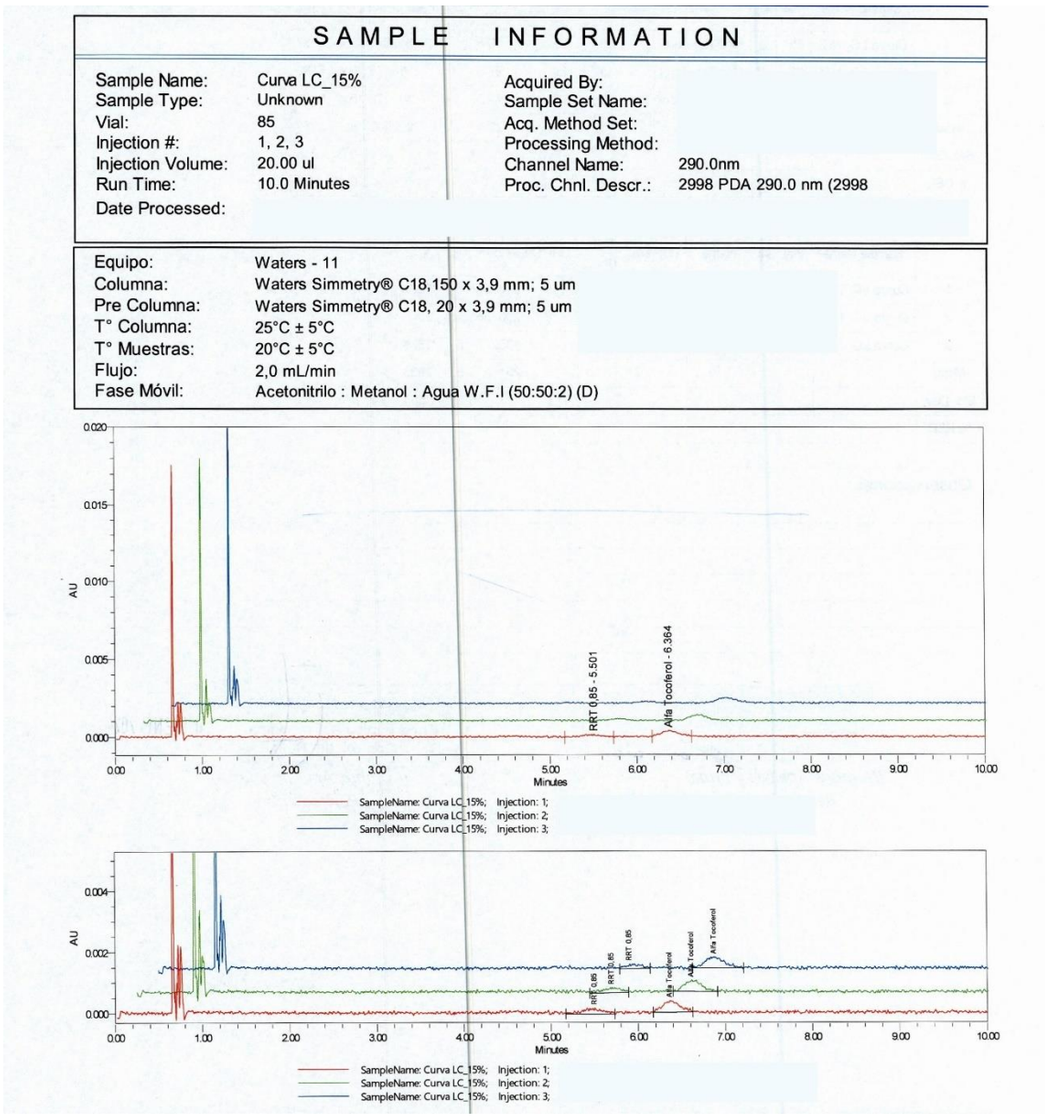


System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Plate Count	RT	Area
1	Linealidad Sistema_150%	30	1	Alfa Tocoferol	64	1.2	4437	6.4	57577
2	Linealidad Sistema_150%	30	2	Alfa Tocoferol	67	1.2	4543	6.4	57651
3	Linealidad Sistema_150%	30	3	Alfa Tocoferol	71	1.2	4380	6.4	58934
Mean					67	1.2	4453	6.4	58054
Std. Dev.								0.0	763
% RSD								0.1	1.3

Figura E.10. Linealidad Sistema – STD 150%.

ANEXO F: CROMATOGRAMAS LIMITE CUANTIFICACIÓN



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

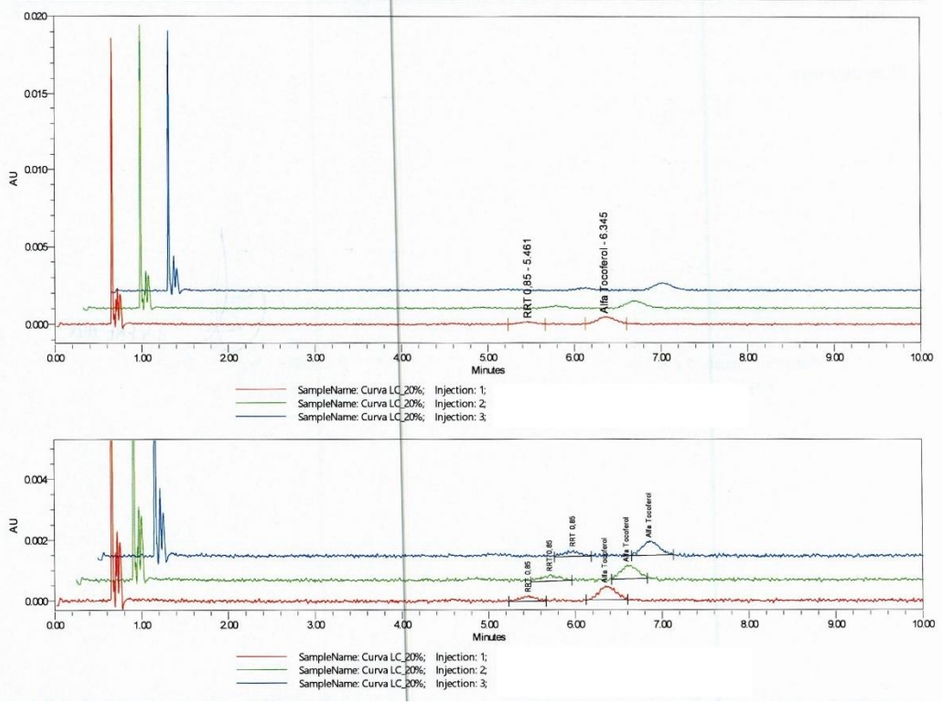
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Curva LC_15%	85	1	Alfa Tocoferol	6	1.2	19.8	362671	6.4	5287
2	Curva LC_15%	85	2	Alfa Tocoferol	5	1.2	27.5	2016428	6.4	5190
3	Curva LC_15%	85	3	Alfa Tocoferol	6	1.1	19.8	331428	6.4	5660
Mean					6	1.1	22.4	903509	6.4	5379
Std. Dev.									0.0	248
% RSD									0.1	4.6

Figura F.1. Límite de Cuantificación – MTA 15%.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Curva LC_20%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	84	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

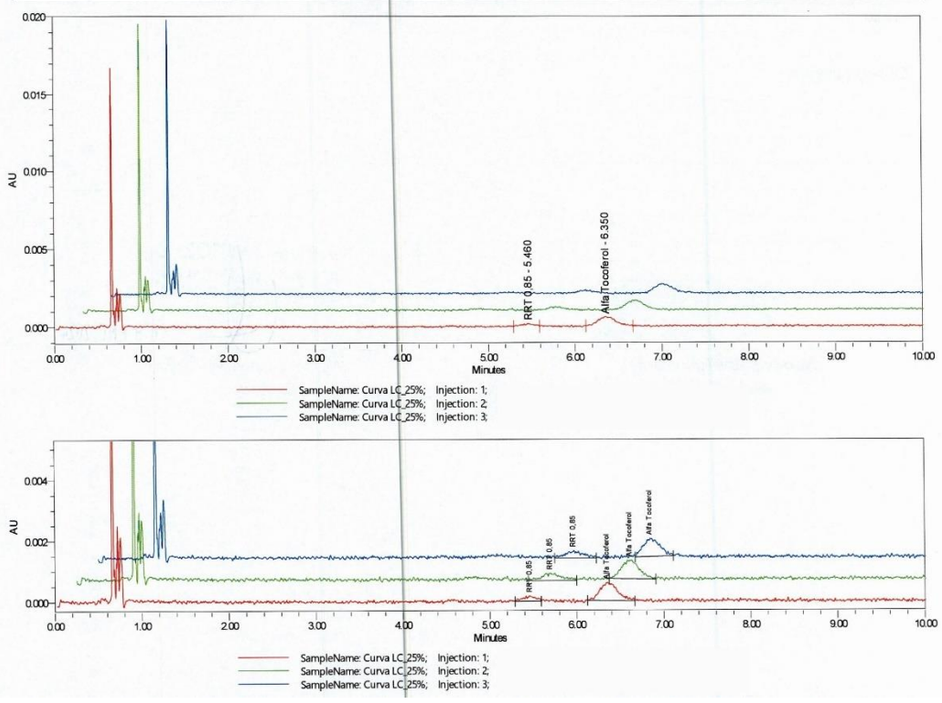
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Curva LC_20%	84	1	Alfa Tocoferol	7	1.1	12.1	57030	6.3	6117
2	Curva LC_20%	84	2	Alfa Tocoferol	6	1.2	21.5	246114	6.3	6095
3	Curva LC_20%	84	3	Alfa Tocoferol	7	1.1	9.3	30083	6.4	6668
Mean					7	1.1	14.3	111076	6.4	6293
Std. Dev.									0.0	324
% RSD									0.1	5.2

Figura F.2. Límite de Cuantificación – MTA 20%.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Curva LC_25%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	83	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

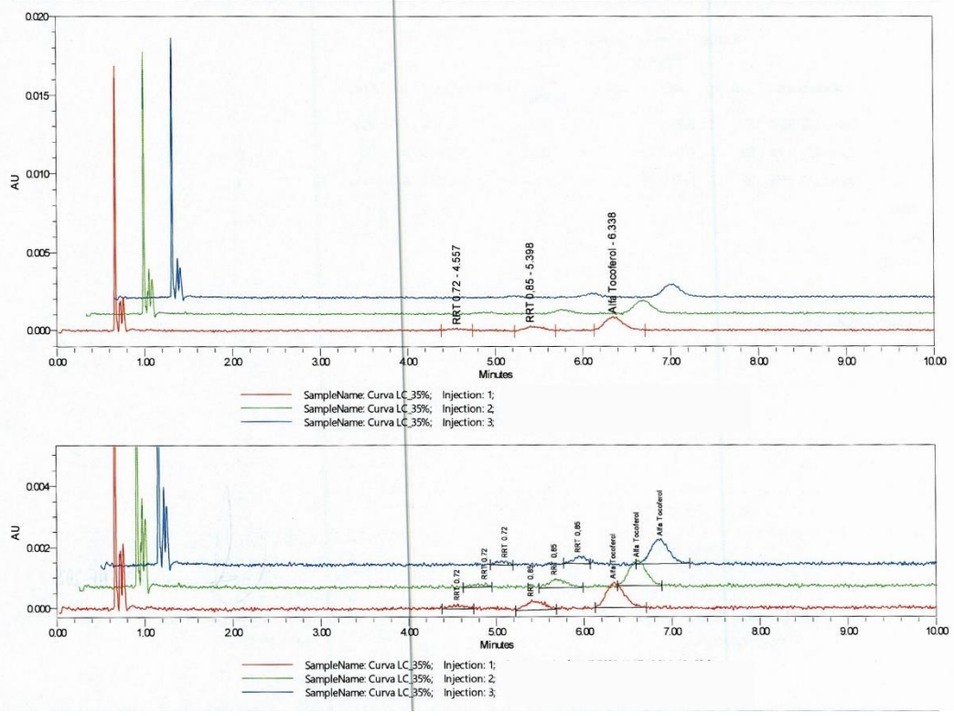
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Curva LC_25%	83	1	Alfa Tocoferol	10	1.3	4.8	5861	6.3	8738
2	Curva LC_25%	83	2	Alfa Tocoferol	11	1.1	2.3	5709	6.4	8721
3	Curva LC_25%	83	3	Alfa Tocoferol	13	1.3	27.8	543267	6.3	8242
Mean					11	1.2	11.7	184946	6.4	8567
Std. Dev.									0.0	281
% RSD									0.1	3.3

Figura F.3. Límite de Cuantificación – MTA 25%.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Curva LC_35%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	82	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

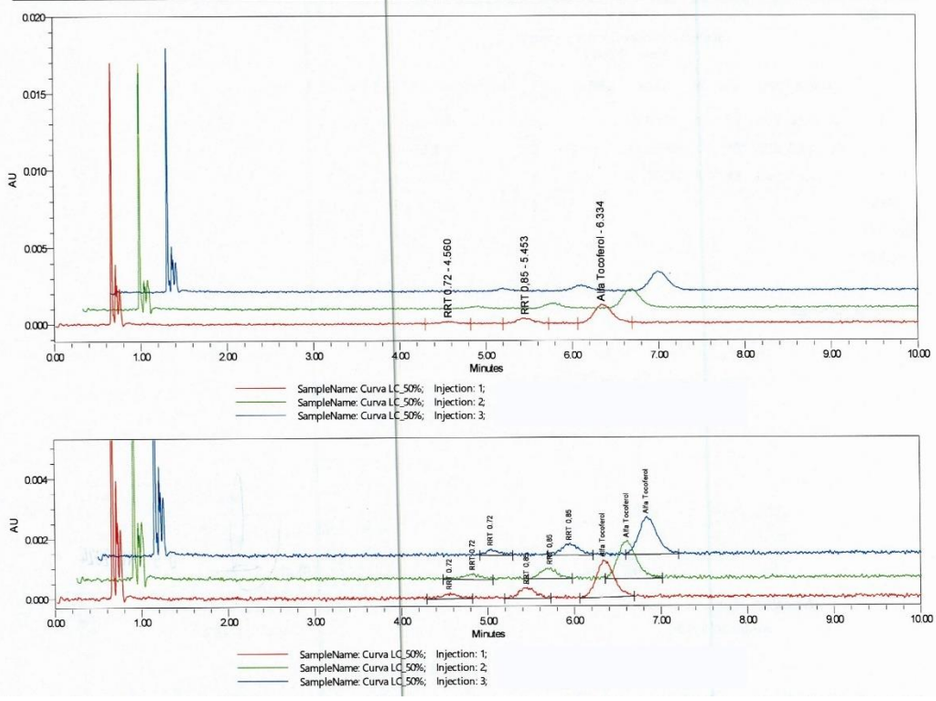
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Curva LC_35%	82	1	Alfa Tocoferol	11	1.2	4.5	4583	6.3	12169
2	Curva LC_35%	82	2	Alfa Tocoferol	18	1.0	4.5	5125	6.4	11720
3	Curva LC_35%	82	3	Alfa Tocoferol	15	1.0	3.9	4353	6.4	11835
Mean					15	1.1	4.3	4687	6.4	11908
Std. Dev.									0.0	233
% RSD									0.3	2.0

Figura F.4. Límite de Cuantificación – MTA 35%.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Curva LC_50%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	81	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

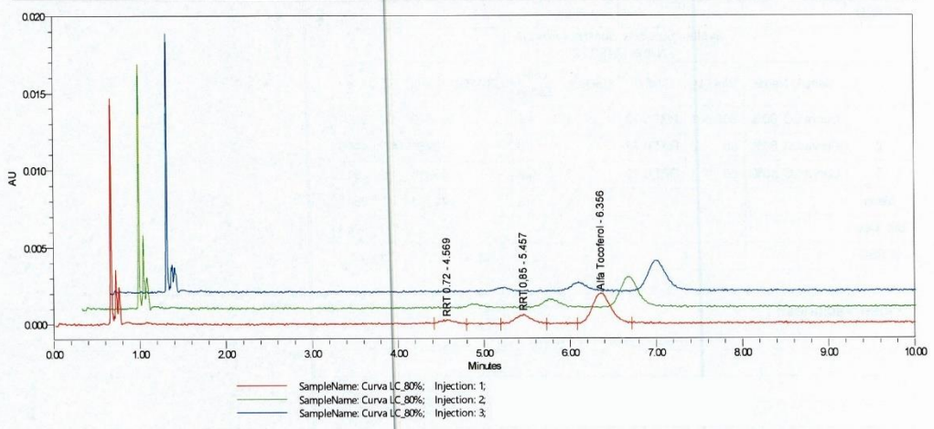
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Curva LC_50%	81	1	Alfa Tocoferol	21	1.1	4.0	4260	6.3	18391
2	Curva LC_50%	81	2	Alfa Tocoferol	19	1.1	3.4	3622	6.4	19197
3	Curva LC_50%	81	3	Alfa Tocoferol	16	1.1	3.4	4073	6.3	19054
Mean					19	1.1	3.6	3985	6.3	18881
Std. Dev.									0.0	430
% RSD									0.2	2.3

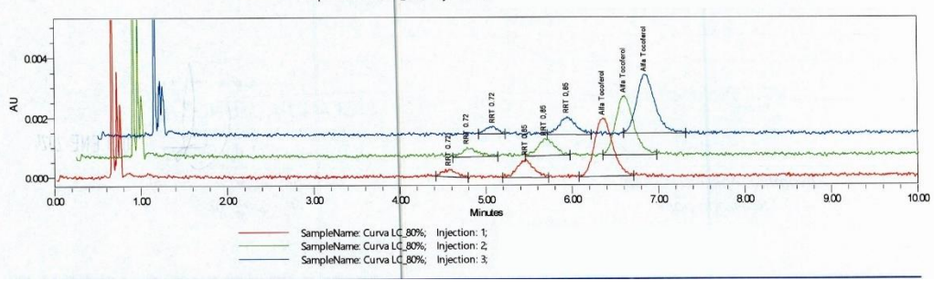
Figura F.5. Límite de Cuantificación – MTA 50%.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Curva LC_80%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	80	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)





System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

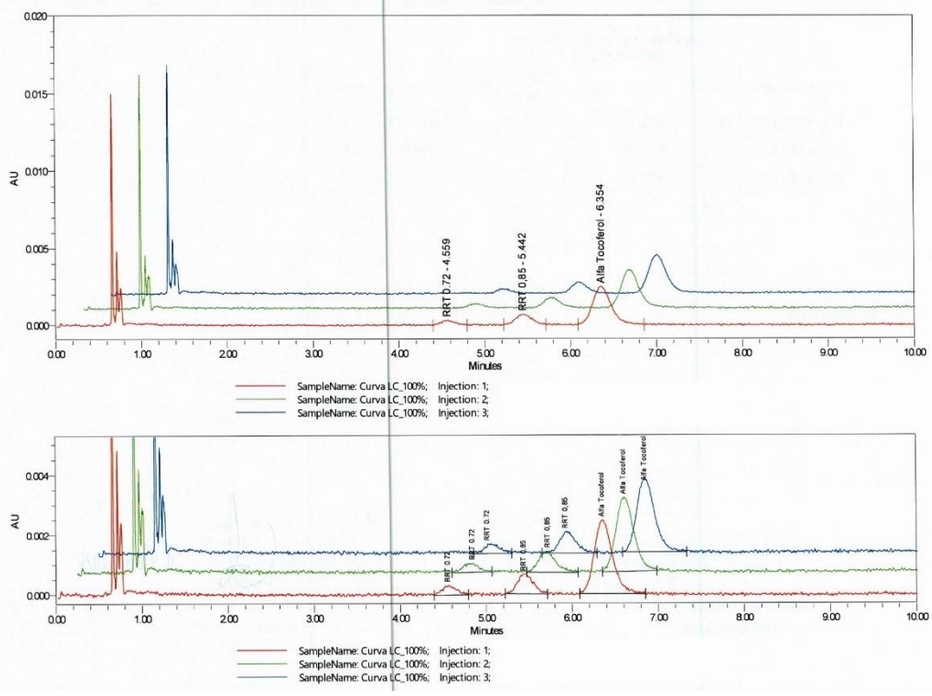
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Curva LC_80%	80	1	Alfa Tocoferol	38	1.1	2.4	4258	6.4	29520
2	Curva LC_80%	80	2	Alfa Tocoferol	35	1.2	4.3	4063	6.4	29543
3	Curva LC_80%	80	3	Alfa Tocoferol	32	1.2	2.3	3929	6.3	29641
Mean					35	1.2	3.0	4083	6.4	29568
Std. Dev.									0.0	65
% RSD									0.1	0.2

Figura F.6. Límite de Cuantificación – MTA 80%.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Curva LC_100%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	79	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

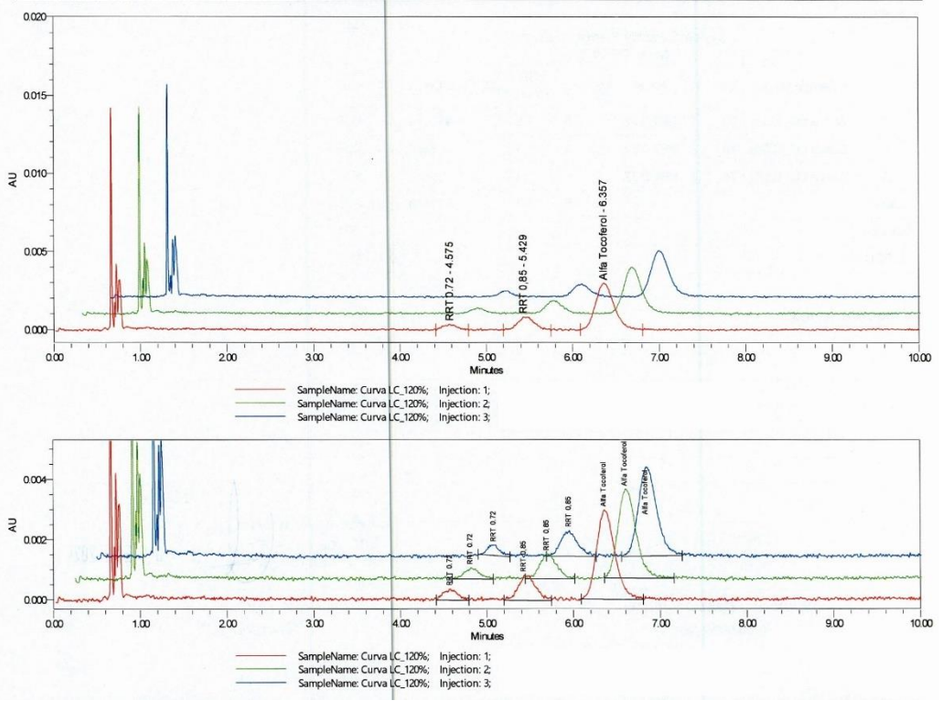
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Curva LC_100%	79	1	Alfa Tocoferol	42	1.2	2.5	4227	6.4	36868
2	Curva LC_100%	79	2	Alfa Tocoferol	37	1.1	2.4	4625	6.4	36797
3	Curva LC_100%	79	3	Alfa Tocoferol	39	1.2	2.5	4363	6.4	36290
Mean					40	1.2	2.5	4405	6.4	36651
Std. Dev.									0.0	315
% RSD									0.0	0.9

Figura F.7. Límite de Cuantificación – MTA 100%.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Curva LC_120%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	78	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

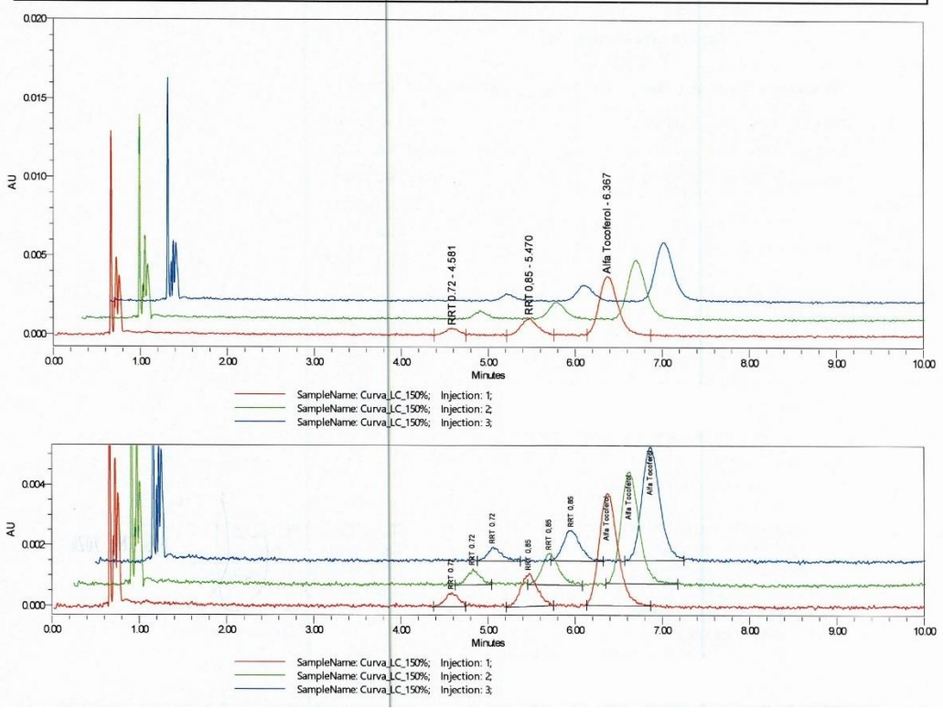
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Curva LC_120%	78	1	Alfa Tocoferol	48	1.2	2.3	4096	6.4	44088
2	Curva LC_120%	78	2	Alfa Tocoferol	34	1.2	2.4	4632	6.3	43797
3	Curva LC_120%	78	3	Alfa Tocoferol	52	1.2	2.3	4035	6.3	44407
Mean					45	1.2	2.3	4254	6.3	44098
Std. Dev.									0.0	305
% RSD									0.1	0.7

Figura F.8. Límite de Cuantificación – MTA 120%.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Curva_LC_150%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	77	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



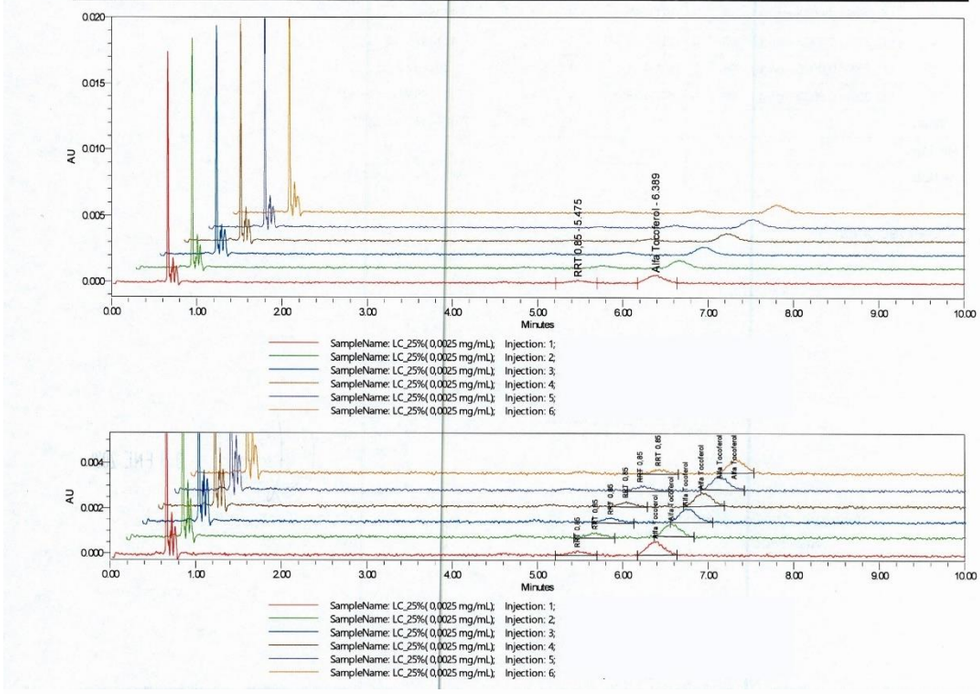
System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Curva_LC_150%	77	1	Alfa Tocoferol	61	1.3	2.4	4301	6.4	55138
2	Curva_LC_150%	77	2	Alfa Tocoferol	69	1.2	2.5	4562	6.4	54514
3	Curva_LC_150%	77	3	Alfa Tocoferol	50	1.1	2.5	4326	6.4	54979
Mean					60	1.2	2.5	4396	6.4	54877
Std. Dev.									0.0	324
% RSD									0.1	0.6

Figura F.9. Límite de Cuantificación – MTA 150%.

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	LC_25%(0,0025 mg/mL)	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	86	Acq. Method Set:	
Injection #:	6, 1, 2, 4, 5, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	LC_25%(0,0025 mg/mL)	86	1	Alfa Tocoferol	7	1.0	5.3	6088	6.4	8669
2	LC_25%(0,0025 mg/mL)	86	2	Alfa Tocoferol	10	1.1	8.3	21026	6.4	7466
3	LC_25%(0,0025 mg/mL)	86	3	Alfa Tocoferol	11	1.2	3.5	6022	6.4	8854
4	LC_25%(0,0025 mg/mL)	86	4	Alfa Tocoferol	9	1.1	4.1	7092	6.4	8243
5	LC_25%(0,0025 mg/mL)	86	5	Alfa Tocoferol	12	1.2	4.0	4175	6.4	8322
6	LC_25%(0,0025 mg/mL)	86	6	Alfa Tocoferol	11	1.2	10.1	32457	6.4	8020
Mean					10	1.1	5.9	12810	6.4	8262
Std. Dev.									0.0	492
% RSD									0.2	6.0

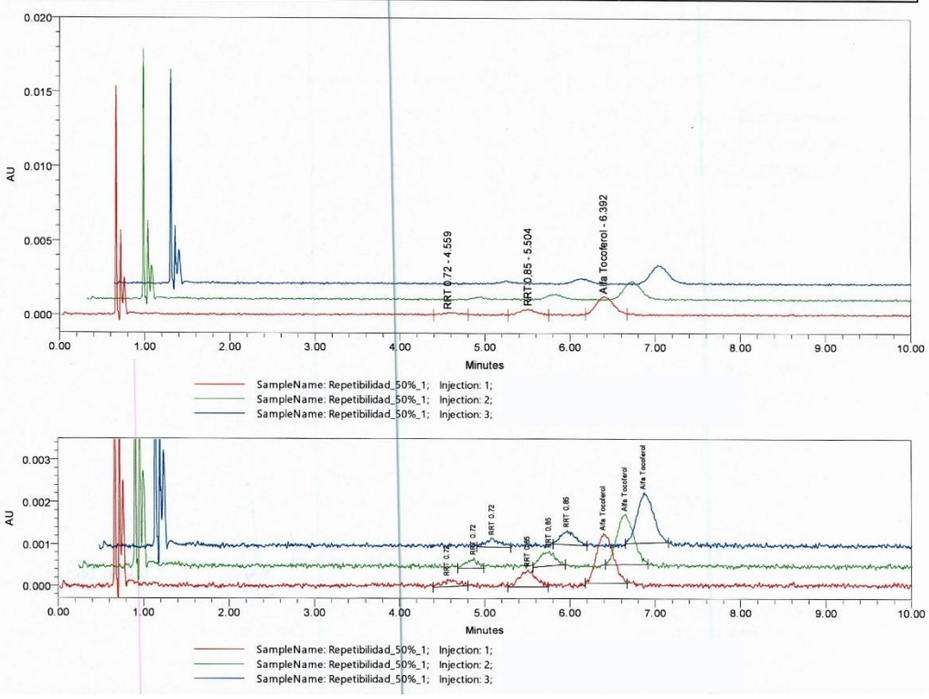
Figura F.10. Confirmación Límite de Cuantificación – MTA 25%.

ANEXO G: CROMATOGRAMAS PRECISIÓN

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Repetibilidad_50%_1	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	35	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um (
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

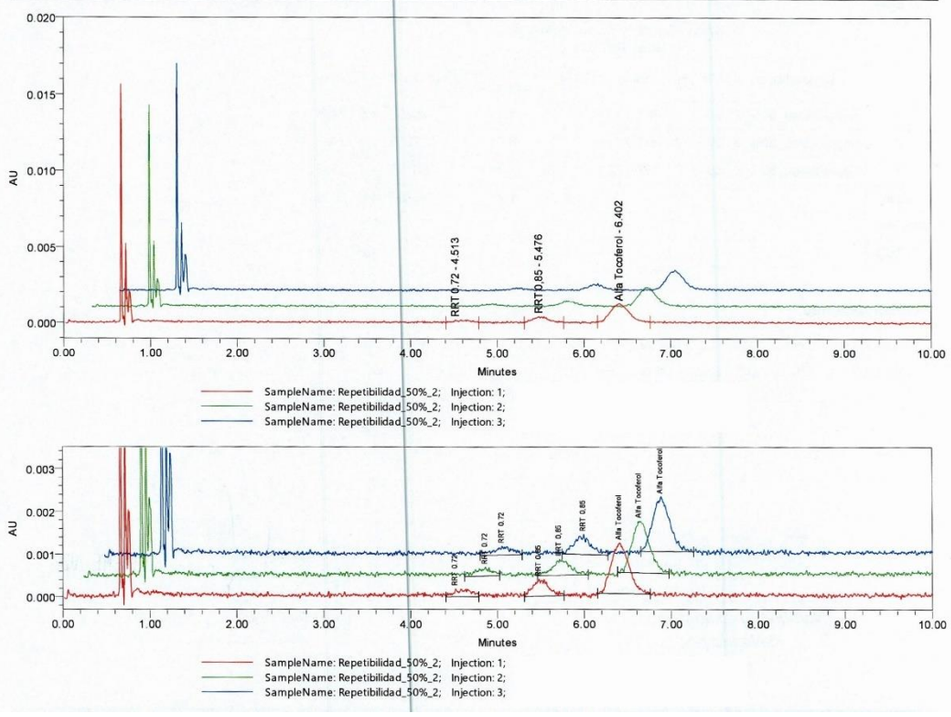
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Repetibilidad_50%_1	35	1	Alfa Tocoferol	18	1.1	4.2	4403	6.4	16367
2	Repetibilidad_50%_1	35	2	Alfa Tocoferol	19	1.1	4.0	4674	6.4	16324
3	Repetibilidad_50%_1	35	3	Alfa Tocoferol	15	1.1	3.3	4355	6.4	16156
Mean					18	1.1	3.8	4478	6.4	16282
Std. Dev.									0.0	112
% RSD									0.2	0.7

Figura G.1. Repetibilidad – MTA 50%-1.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Repetibilidad_50%_2	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	36	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

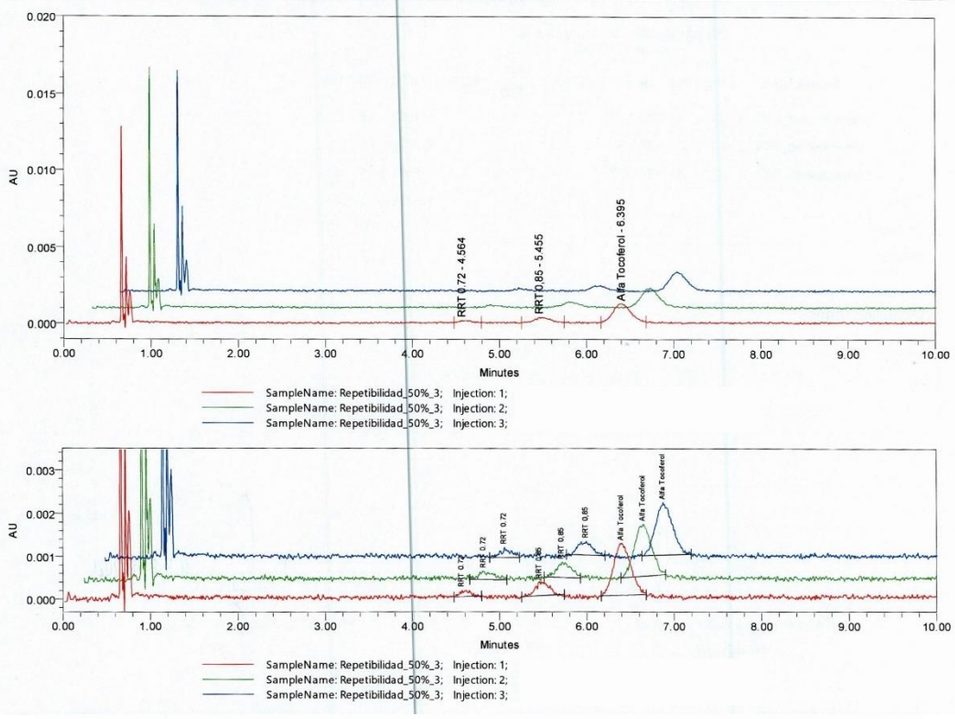
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Repetibilidad_50%_2	36	1	Alfa Tocoferol	20	1.2	3.9	4158	6.4	16920
2	Repetibilidad_50%_2	36	2	Alfa Tocoferol	22	1.1	2.7	5872	6.4	17079
3	Repetibilidad_50%_2	36	3	Alfa Tocoferol	16	1.1	3.3	4416	6.4	17602
Mean					19	1.1	3.3	4815	6.4	17200
Std. Dev.									0.0	357
% RSD									0.1	2.1

Figura G.2. Repetibilidad – MTA 50%-2.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Repetibilidad_50%_3	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	37	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

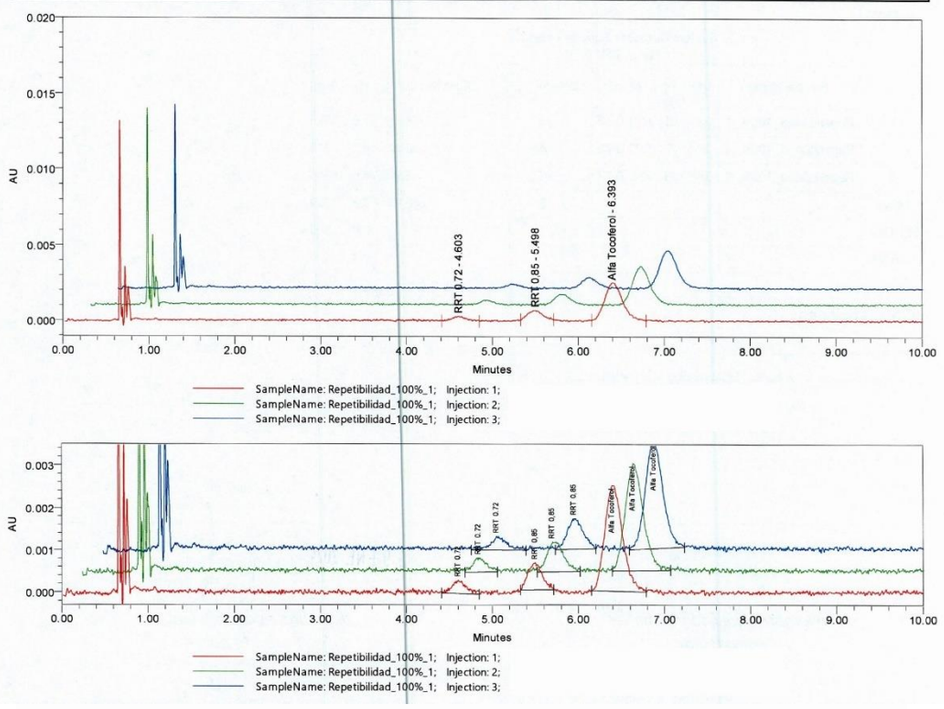
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Repetibilidad_50%_3	37	1	Alfa Tocoferol	15	1.0	3.1	4675	6.4	16855
2	Repetibilidad_50%_3	37	2	Alfa Tocoferol	24	1.0	3.1	4480	6.4	16680
3	Repetibilidad_50%_3	37	3	Alfa Tocoferol	23	1.1	3.4	3934	6.4	16698
Mean					21	1.0	3.2	4363	6.4	16744
Std. Dev.									0.0	96
% RSD									0.1	0.6

Figura G.3. Repetibilidad – MTA 50%-3.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Repetibilidad_100%_1	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	38	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

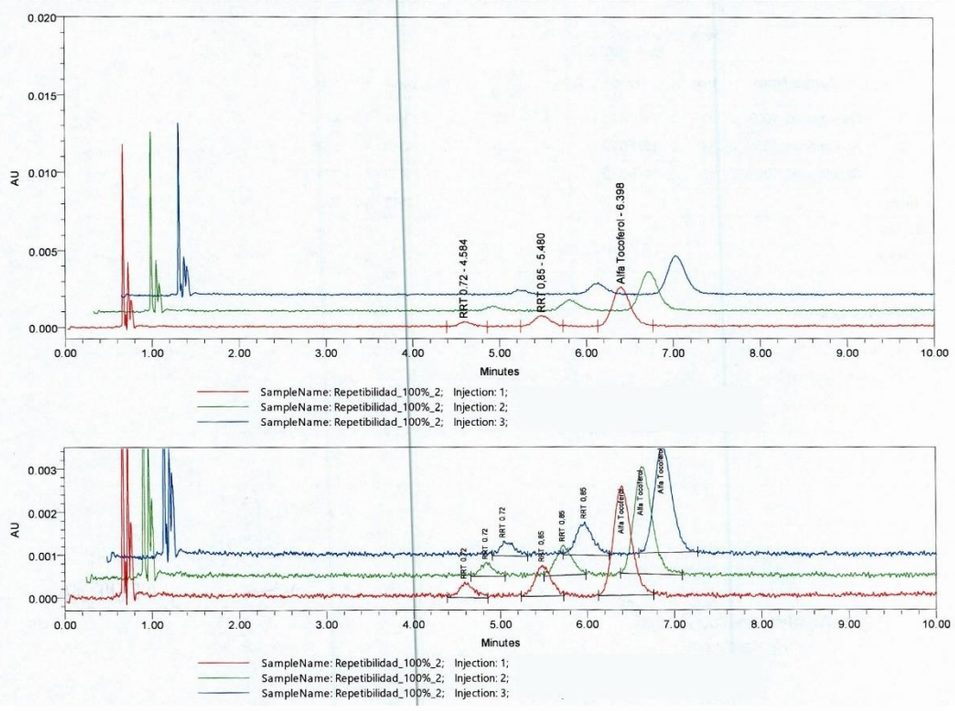
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Repetibilidad_100%_1	38	1	Alfa Tocoferol	44	1.3	4.3	4683	6.4	35972
2	Repetibilidad_100%_1	38	2	Alfa Tocoferol	48	1.2	3.3	4358	6.4	37109
3	Repetibilidad_100%_1	38	3	Alfa Tocoferol	53	1.1	2.7	4646	6.4	36819
Mean					48	1.2	3.4	4562	6.4	36633
Std. Dev.									0.0	591
% RSD									0.1	1.6

Figura G.4. Repetibilidad – MTA 100%-1.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Repetibilidad_100%_2	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	39	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

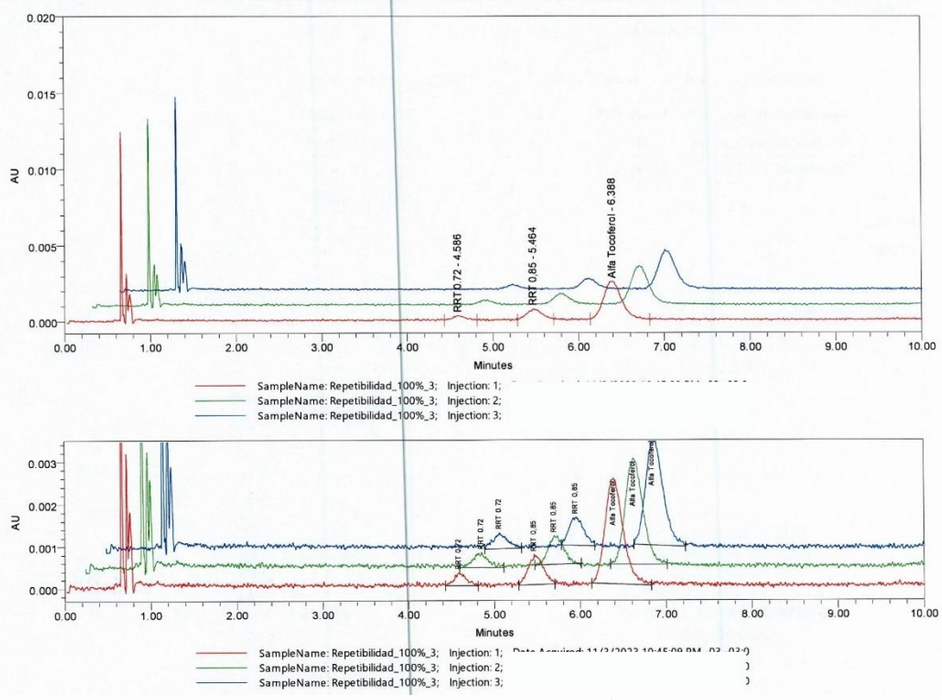
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Repetibilidad_100%_2	39	1	Alfa Tocoferol	33	1.2	2.4	4614	6.4	36640
2	Repetibilidad_100%_2	39	2	Alfa Tocoferol	40	1.3	2.6	4293	6.4	36655
3	Repetibilidad_100%_2	39	3	Alfa Tocoferol	43	1.2	2.5	4410	6.4	35726
Mean					39	1.2	2.5	4439	6.4	36341
Std. Dev.									0.0	532
% RSD									0.2	1.5

Figura G.5. Repetibilidad – MTA 100%-2.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Repetibilidad_100%_3	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	40	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um (
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

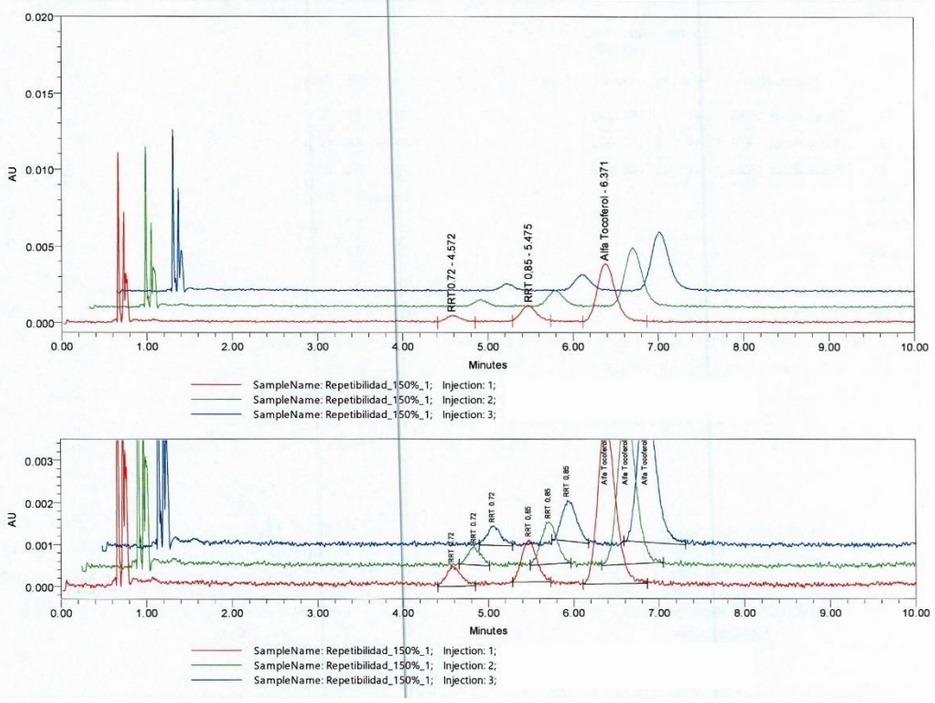
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Repetibilidad_100%_3	40	1	Alfa Tocoferol	52	1.2	2.6	4485	6.4	36886
2	Repetibilidad_100%_3	40	2	Alfa Tocoferol	39	1.1	2.5	4560	6.4	35828
3	Repetibilidad_100%_3	40	3	Alfa Tocoferol	42	1.2	4.1	4471	6.4	36000
Mean					44	1.2	3.1	4505	6.4	36238
Std. Dev.									0.0	568
% RSD									0.2	1.6

Figura G.6. Repetibilidad – MTA 100%-3.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Repetibilidad_150%_1	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	41	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

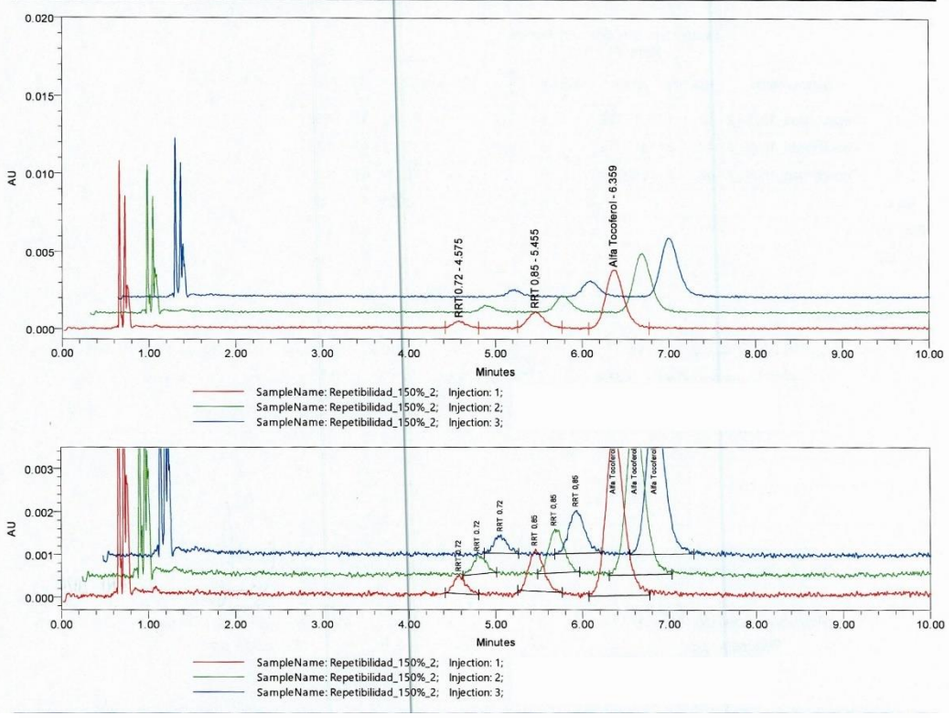
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Repetibilidad_150%_1	41	1	Alfa Tocoferol	67	1.2	2.5	4404	6.4	56230
2	Repetibilidad_150%_1	41	2	Alfa Tocoferol	63	1.1	2.5	4312	6.4	55158
3	Repetibilidad_150%_1	41	3	Alfa Tocoferol	61	1.3	2.6	4532	6.4	54759
Mean					64	1.2	2.5	4416	6.4	55382
Std. Dev.									0.0	761
% RSD									0.1	1.4

Figura G.7. Repetibilidad – MTA 150%-1.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Repetibilidad_150%_2	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	42	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

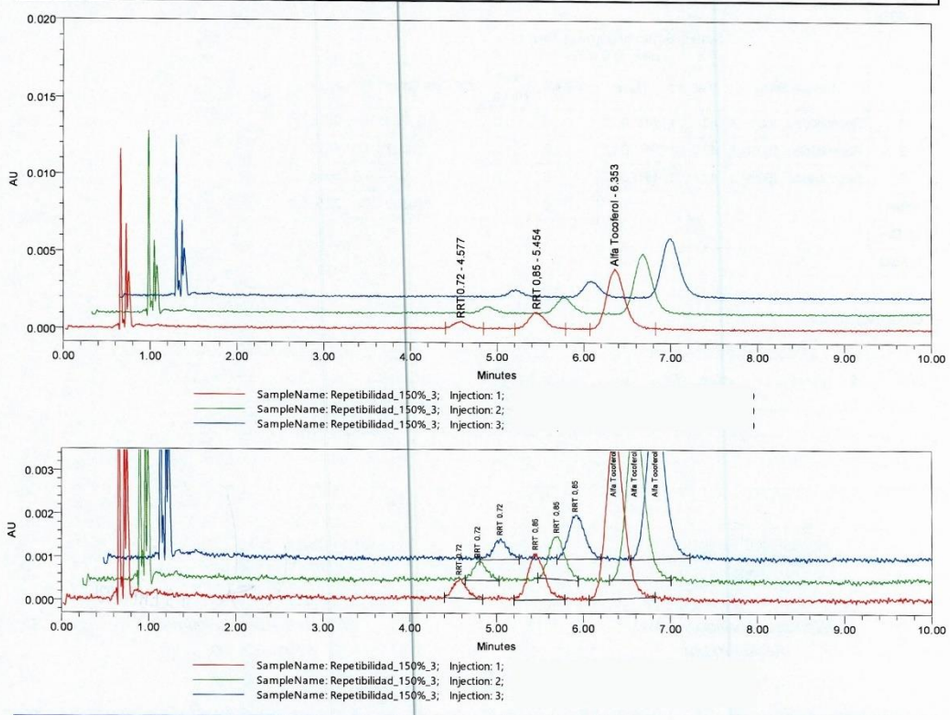
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Repetibilidad_150%_2	42	1	Alfa Tocoferol	55	1.2	2.1	4460	6.4	56849
2	Repetibilidad_150%_2	42	2	Alfa Tocoferol	59	1.1	2.4	4132	6.4	56605
3	Repetibilidad_150%_2	42	3	Alfa Tocoferol	64	1.2	2.5	4551	6.4	55999
Mean					59	1.2	2.3	4381	6.4	56484
Std. Dev.									0.0	438
% RSD									0.1	0.8

Figura G.8. Repetibilidad – MTA 150%-2.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Repetibilidad_150%_3	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	43	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

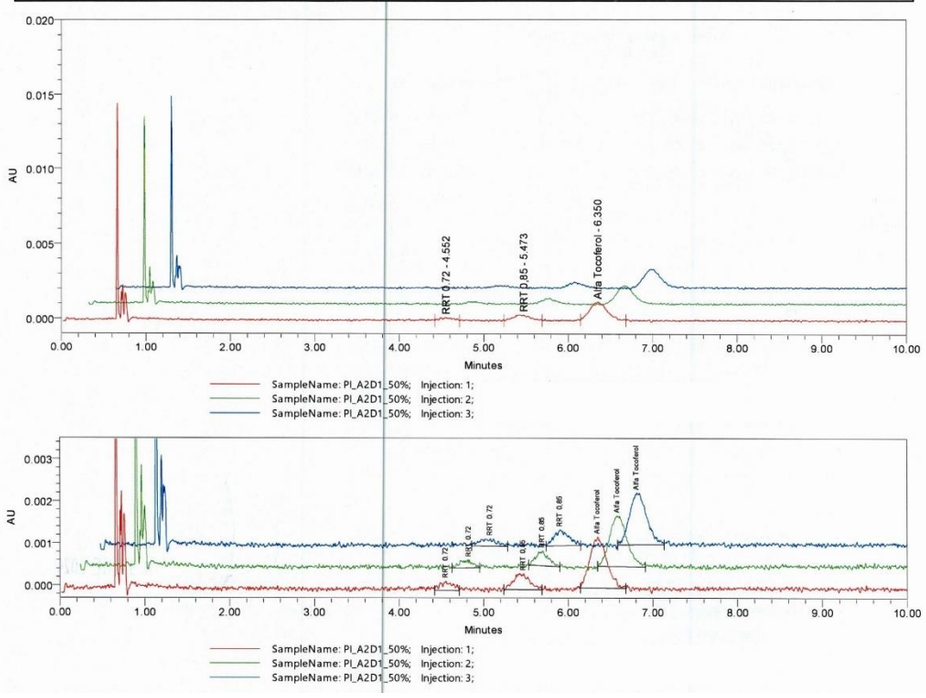
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Repetibilidad_150%_3	43	1	Alfa Tocoferol	55	1.1	2.4	4317	6.4	55673
2	Repetibilidad_150%_3	43	2	Alfa Tocoferol	60	1.2	2.4	4277	6.4	55309
3	Repetibilidad_150%_3	43	3	Alfa Tocoferol	53	1.1	2.5	4338	6.4	55888
Mean					56	1.2	2.4	4311	6.4	55623
Std. Dev.									0.0	293
% RSD									0.0	0.5

Figura G.9. Repetibilidad – MTA 150%-3.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	PI_A2D1_50%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	45	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



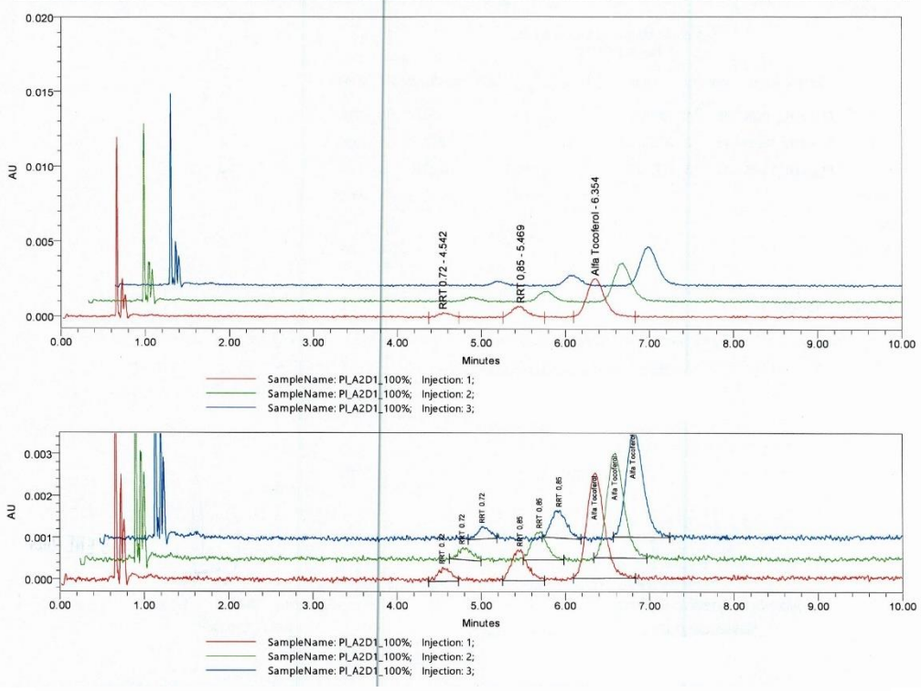
System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	PI_A2D1_50%	45	1	Alfa Tocoferol	24	1.1	3.7	4744	6.4	16890
2	PI_A2D1_50%	45	2	Alfa Tocoferol	20	1.1	4.1	4709	6.3	17537
3	PI_A2D1_50%	45	3	Alfa Tocoferol	23	1.2	4.2	4180	6.3	17563
Mean					22	1.1	4.0	4544	6.3	17330
Std. Dev.									0.0	382
% RSD									0.1	2.2

Figura G.10. Precisión Intermedia – A2D1 MTA 50%.

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	PI_A2D1_100%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	46	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



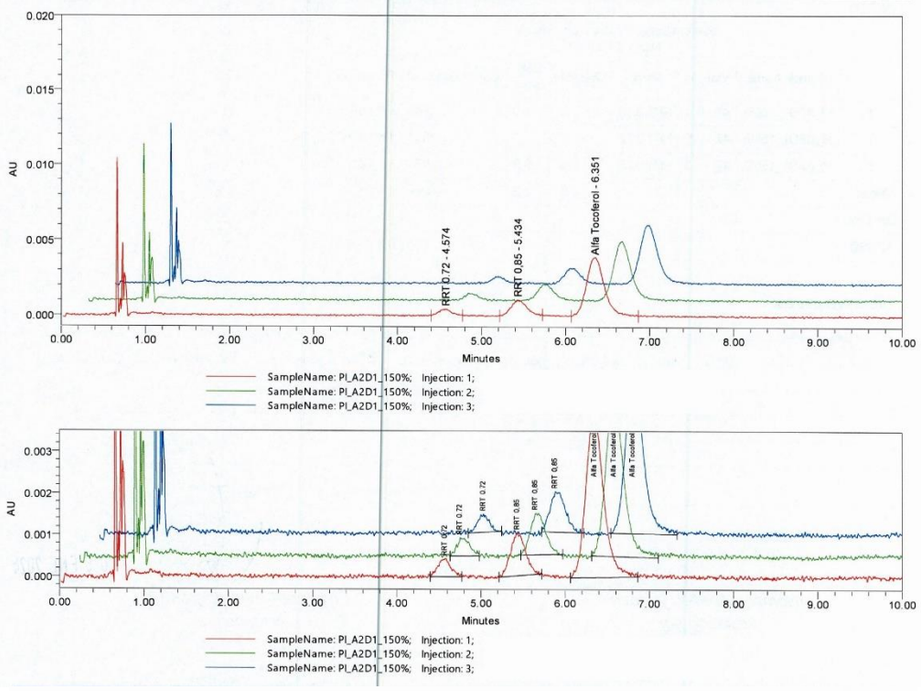
System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	PI_A2D1_100%	46	1	Alfa Tocoferol	51	1.2	2.8	4642	6.4	37096
2	PI_A2D1_100%	46	2	Alfa Tocoferol	39	1.2	2.4	4326	6.4	36039
3	PI_A2D1_100%	46	3	Alfa Tocoferol	50	1.2	3.6	4342	6.3	36520
Mean					47	1.2	2.9	4437	6.3	36552
Std. Dev.									0.0	529
% RSD									0.1	1.4

Figura G.11. Precisión Intermedia – A2D1 MTA 100%.

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	PI_A2D1_150%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	47	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



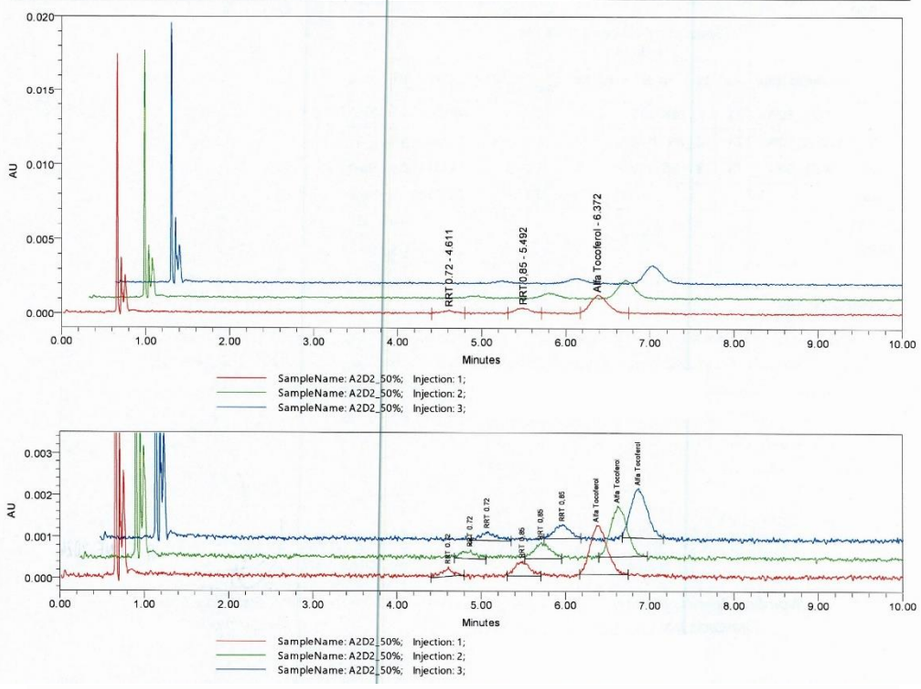
System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	PI_A2D1_150%	47	1	Alfa Tocoferol	62	1.2	2.5	4403	6.4	57812
2	PI_A2D1_150%	47	2	Alfa Tocoferol	66	1.2	2.6	4259	6.3	57750
3	PI_A2D1_150%	47	3	Alfa Tocoferol	66	1.3	3.8	4313	6.3	57350
Mean					65	1.2	3.0	4325	6.3	57637
Std. Dev.									0.0	251
% RSD									0.2	0.4

Figura G.12. Precisión Intermedia – A2D1 MTA 150%.

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	A2D2_50%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	73	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



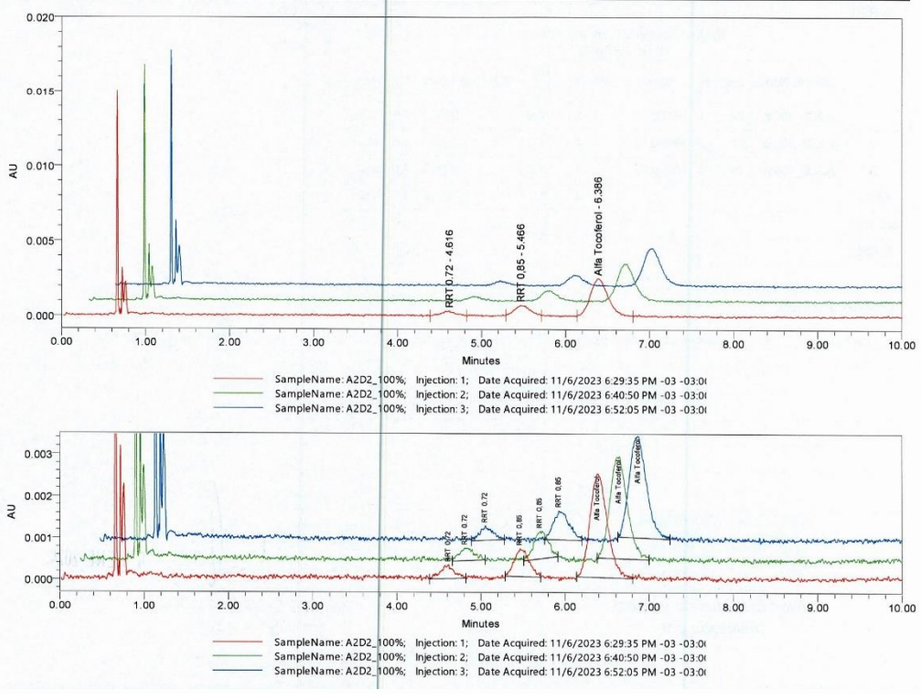
System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	A2D2_50%	73	1	Alfa Tocoferol	17	1.2	3.7	4340	6.4	16771
2	A2D2_50%	73	2	Alfa Tocoferol	23	1.1	3.4	4715	6.4	16758
3	A2D2_50%	73	3	Alfa Tocoferol	16	1.2	4.8	3714	6.4	16283
Mean					19	1.1	4.0	4256	6.4	16604
Std. Dev.									0.0	278
% RSD									0.2	1.7

Figura G.13. Precisión Intermedia – A2D2 MTA 50%.

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	A2D2_100%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	74	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:	11/14/2023 9:54:58 AM -03 -03:00, 11/14/2023 9:55:00 AM -03 -03:00, 11/14/2023 9:55:02 AM -03 -03:00		

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um (2022-DFK007)
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um (2022-DFK008)
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



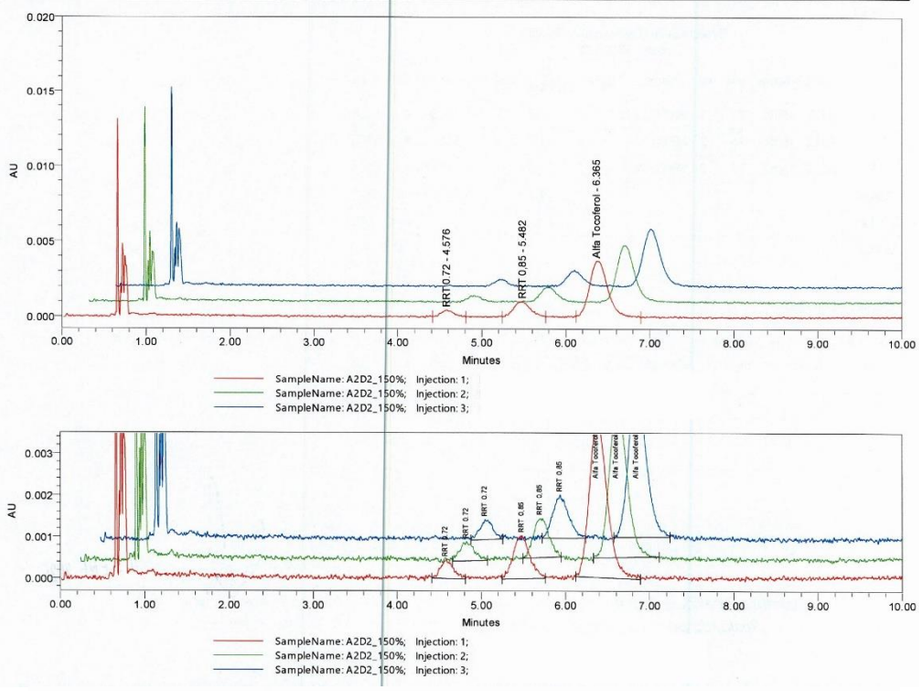
System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	A2D2_100%	74	1	Alfa Tocoferol	43	1.2	2.5	4412	6.4	36056
2	A2D2_100%	74	2	Alfa Tocoferol	37	1.1	2.6	4521	6.4	35510
3	A2D2_100%	74	3	Alfa Tocoferol	33	1.1	4.1	4488	6.4	34833
Mean					38	1.1	3.1	4474	6.4	35466
Std. Dev.									0.0	612
% RSD									0.1	1.7

Figura G.14. Precisión Intermedia – A2D2 MTA 100%.

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	A2D2_150%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	75	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



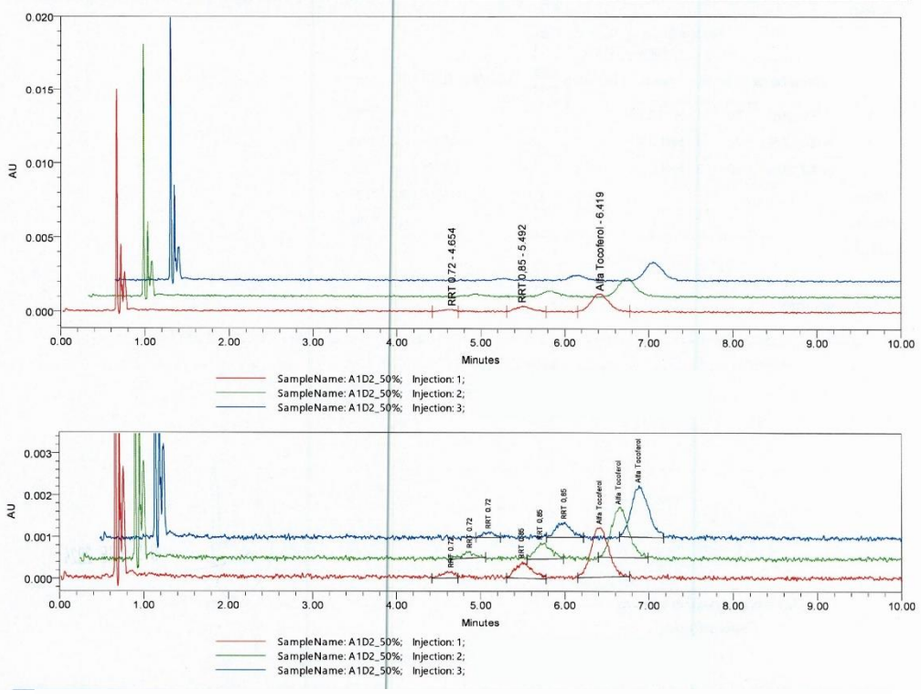
System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	A2D2_150%	75	1	Alfa Tocoferol	64	1.4	3.8	4397	6.4	55561
2	A2D2_150%	75	2	Alfa Tocoferol	58	1.3	2.5	4346	6.4	53905
3	A2D2_150%	75	3	Alfa Tocoferol	64	1.2	2.4	4506	6.4	54206
Mean					62	1.3	2.9	4416	6.4	54557
Std. Dev.									0.0	882
% RSD									0.0	1.6

Figura G.15. Precisión Intermedia – A2D2 MTA 150%.

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	A1D2_50%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	70	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



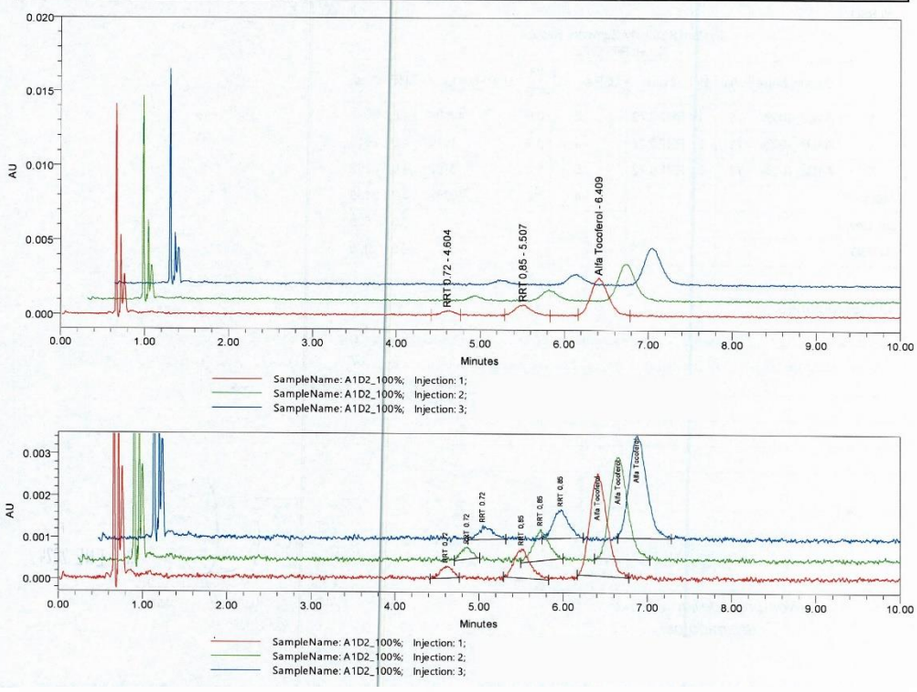
System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	A1D2_50%	70	1	Alfa Tocoferol	19	0.9	2.3	4785	6.4	17707
2	A1D2_50%	70	2	Alfa Tocoferol	17	1.1	4.3	5083	6.4	17294
3	A1D2_50%	70	3	Alfa Tocoferol	18	1.2	2.8	4213	6.4	17585
Mean					18	1.1	3.2	4694	6.4	17529
Std. Dev.									0.0	212
% RSD									0.1	1.2

Figura G.16. Precisión Intermedia – A1D2 MTA 50%.

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	A1D2_100%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	71	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



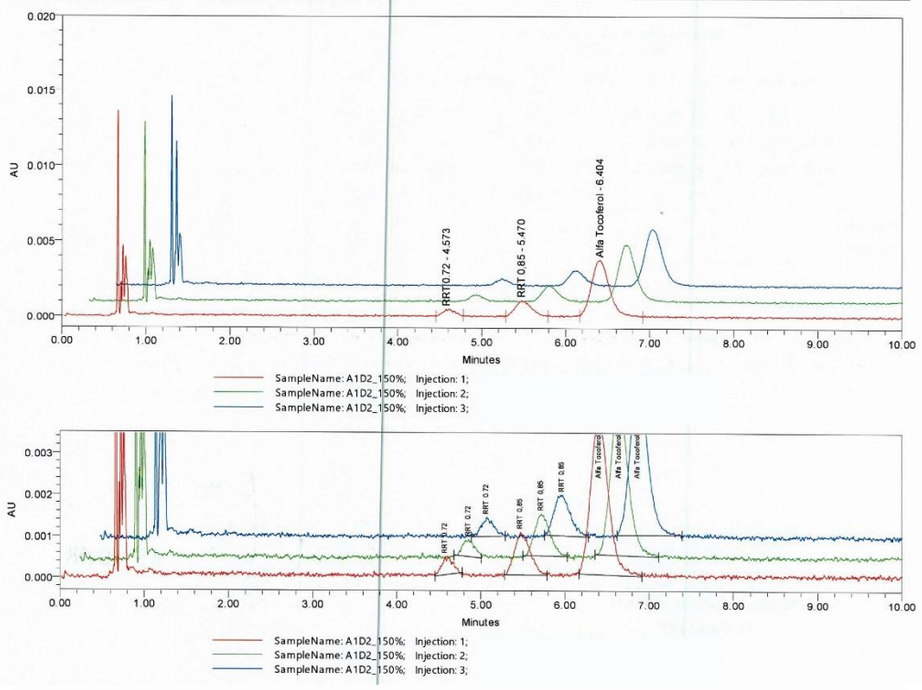
System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	A1D2_100%	71	1	Alfa Tocoferol	36	1.2	2.3	4620	6.4	34593
2	A1D2_100%	71	2	Alfa Tocoferol	39	1.2	2.3	4505	6.4	35896
3	A1D2_100%	71	3	Alfa Tocoferol	43	1.2	2.6	4375	6.4	35631
Mean					39	1.2	2.4	4500	6.4	35373
Std. Dev.									0.0	689
% RSD									0.1	1.9

Figura G.17. Precisión Intermedia – A1D2 MTA 100%.

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	A1D2_150%	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	72	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	A1D2_150%	72	1	Alfa Tocoferol	66	1.2	2.5	4305	6.4	55013
2	A1D2_150%	72	2	Alfa Tocoferol	66	1.2	2.5	4390	6.4	54438
3	A1D2_150%	72	3	Alfa Tocoferol	63	1.2	2.3	4419	6.4	54604
Mean					65	1.2	2.4	4371	6.4	54685
Std. Dev.									0.0	296
% RSD									0.1	0.5

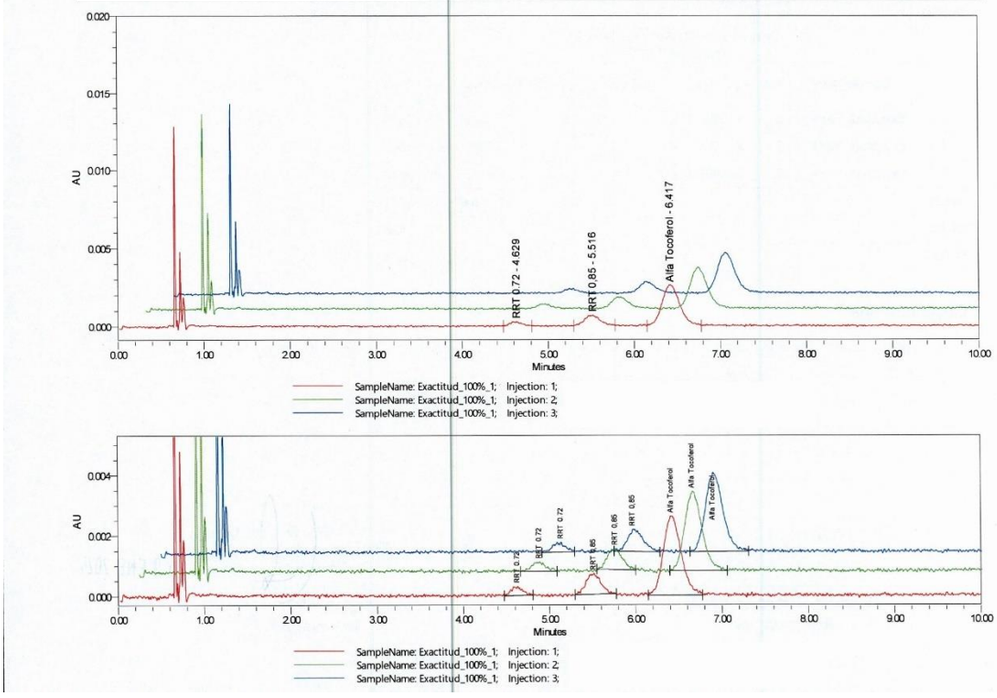
Figura G.18. Precisión Intermedia – A1D2 MTA 150%.

ANEXO H: EXACTITUD

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Exactitud_100%_1	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	6	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

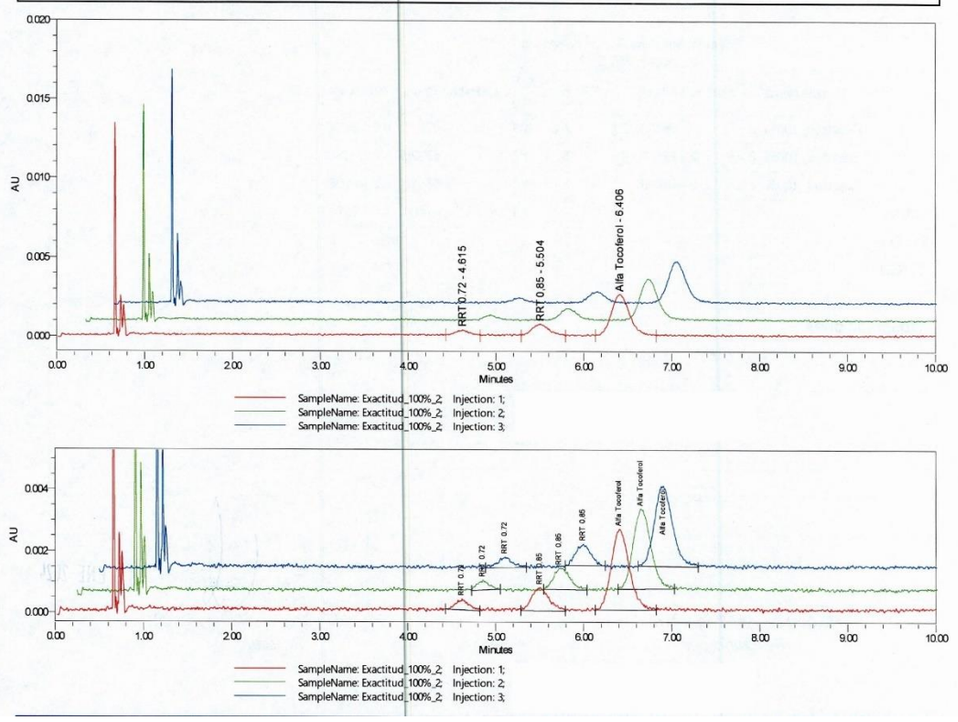
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Exactitud_100%_1	6	1	Alfa Tocoferol	51	1.2	2.6	4659	6.4	37816
2	Exactitud_100%_1	6	2	Alfa Tocoferol	35	1.2	2.4	4433	6.4	37219
3	Exactitud_100%_1	6	3	Alfa Tocoferol	40	1.2	2.7	4932	6.4	37260
Mean					42	1.2	2.5	4674	6.4	37432
Std. Dev.									0.0	334
% RSD									0.1	0.9

Figura H.1. Exactitud – MTA 100%-1.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Exactitud_100%_2	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	7	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



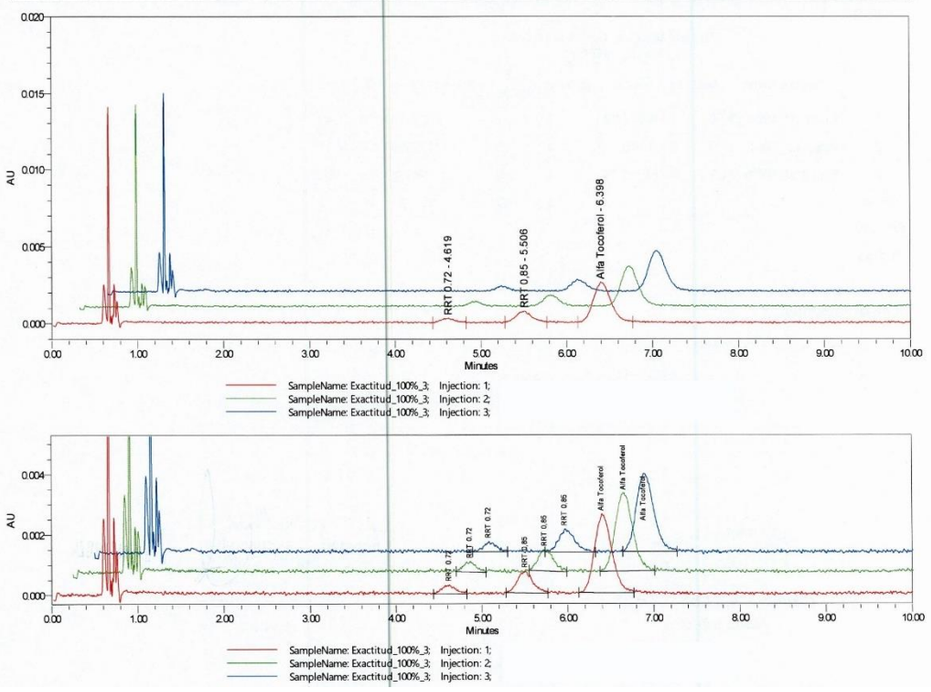
System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Exactitud_100%_2	7	1	Alfa Tocoferol	35	1.2	4.4	4617	6.4	37940
2	Exactitud_100%_2	7	2	Alfa Tocoferol	46	1.2	2.6	4652	6.4	37164
3	Exactitud_100%_2	7	3	Alfa Tocoferol	41	1.1	3.2	4653	6.4	37834
Mean					41	1.1	3.4	4641	6.4	37646
Std. Dev.									0.0	421
% RSD									0.1	1.1

Figura H.2. Exactitud – MTA 100%-2.

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	Exactitud_100%_3	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	9	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

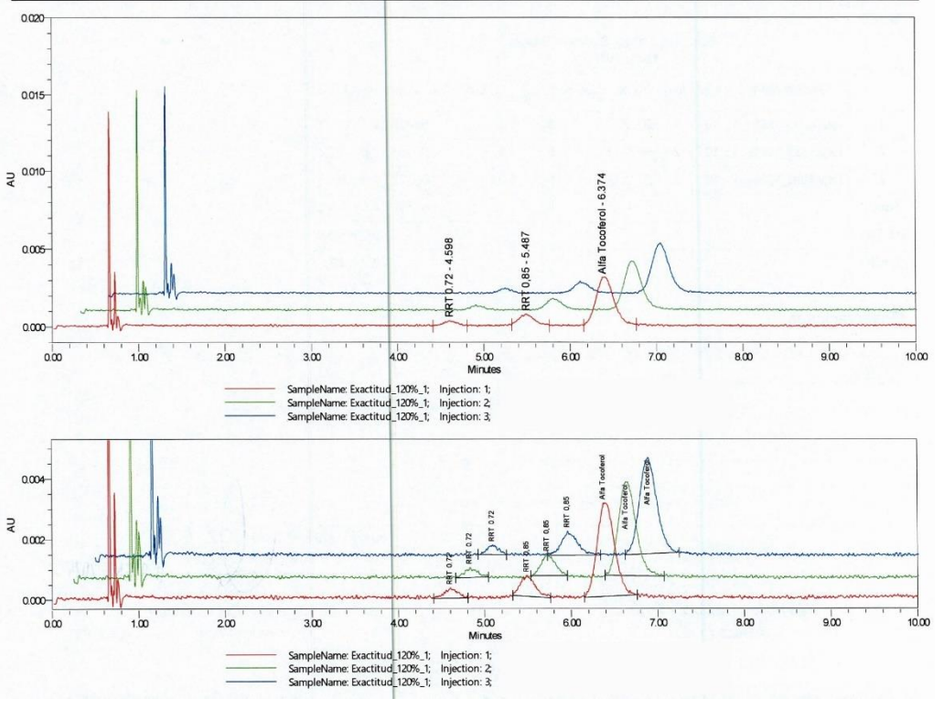
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Exactitud_100%_3	9	1	Alfa Tocoferol	58	1.2	2.6	4377	6.4	36867
2	Exactitud_100%_3	9	2	Alfa Tocoferol	56	1.1	3.7	4378	6.4	36833
3	Exactitud_100%_3	9	3	Alfa Tocoferol	49	1.2	2.6	4620	6.4	37207
Mean					54	1.2	3.0	4458	6.4	36969
Std. Dev.									0.0	207
% RSD									0.1	0.6

Figura H.3. Exactitud – MTA 100%-3.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Exactitud_120%_1	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	10	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

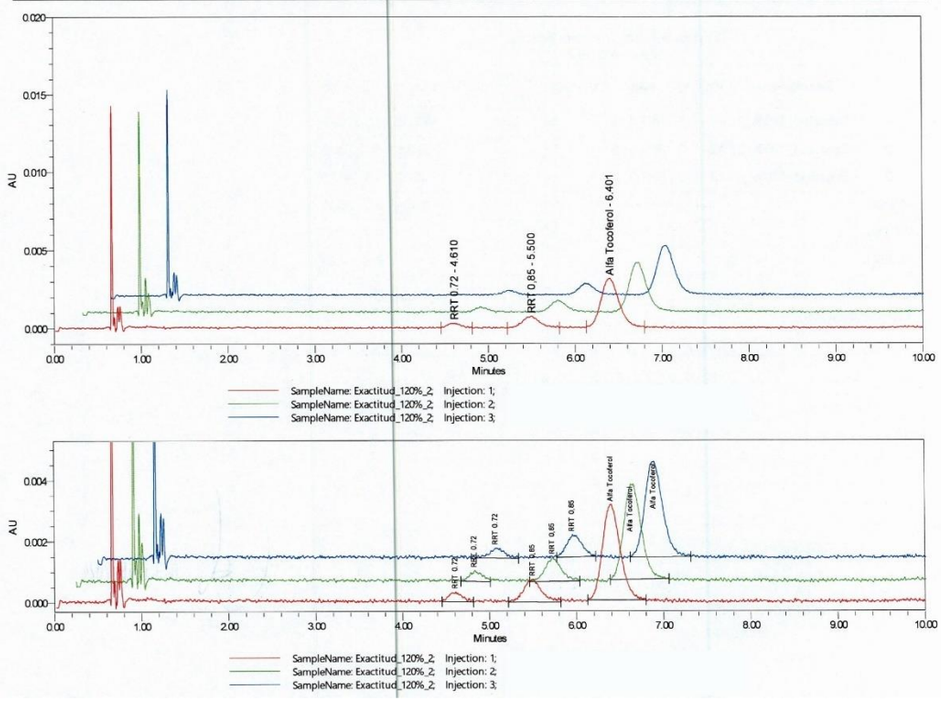
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Exactitud_120%_1	10	1	Alfa Tocoferol	54	1.2	3.5	4827	6.4	43992
2	Exactitud_120%_1	10	2	Alfa Tocoferol	55	1.2	2.8	4492	6.4	44321
3	Exactitud_120%_1	10	3	Alfa Tocoferol	57	1.1	2.6	4225	6.4	44651
Mean					55	1.2	3.0	4515	6.4	44321
Std. Dev.									0.0	330
% RSD									0.2	0.7

Figura H.4. Exactitud – MTA 120%-1.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Exactitud_120%_2	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	12	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

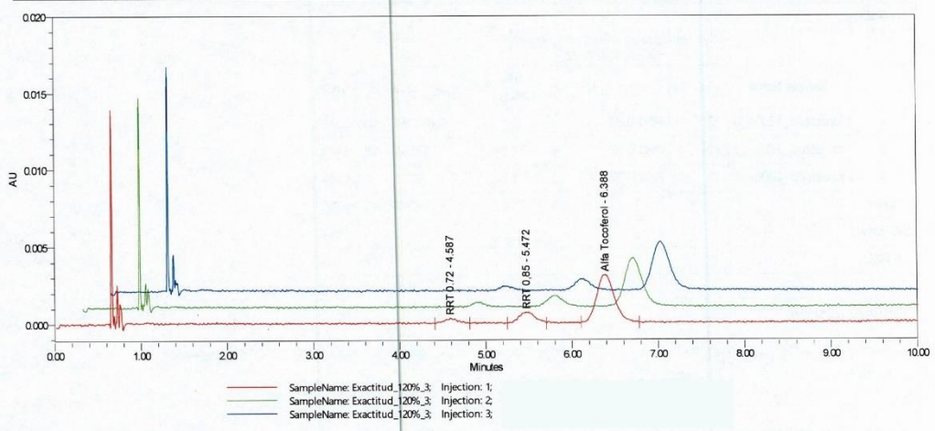
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Exactitud_120%_2	12	1	Alfa Tocoferol	64	1.1	2.5	4558	6.4	44473
2	Exactitud_120%_2	12	2	Alfa Tocoferol	50	1.2	2.4	4800	6.4	43950
3	Exactitud_120%_2	12	3	Alfa Tocoferol	46	1.1	2.6	4547	6.4	44934
Mean					53	1.1	2.5	4635	6.4	44452
Std. Dev.									0.0	493
% RSD									0.2	1.1

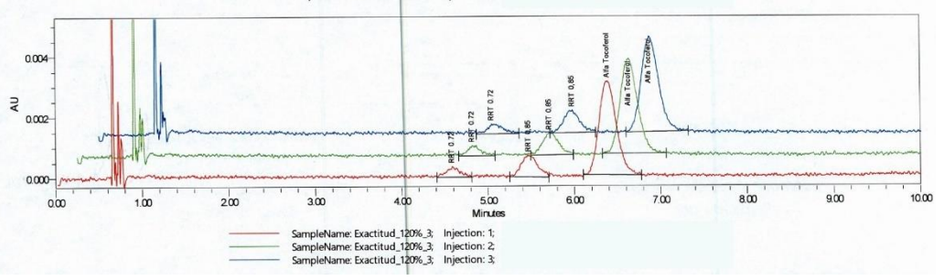
Figura H.5. Exactitud – MTA 120%-2.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Exactitud_120%_3	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	13	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)





System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

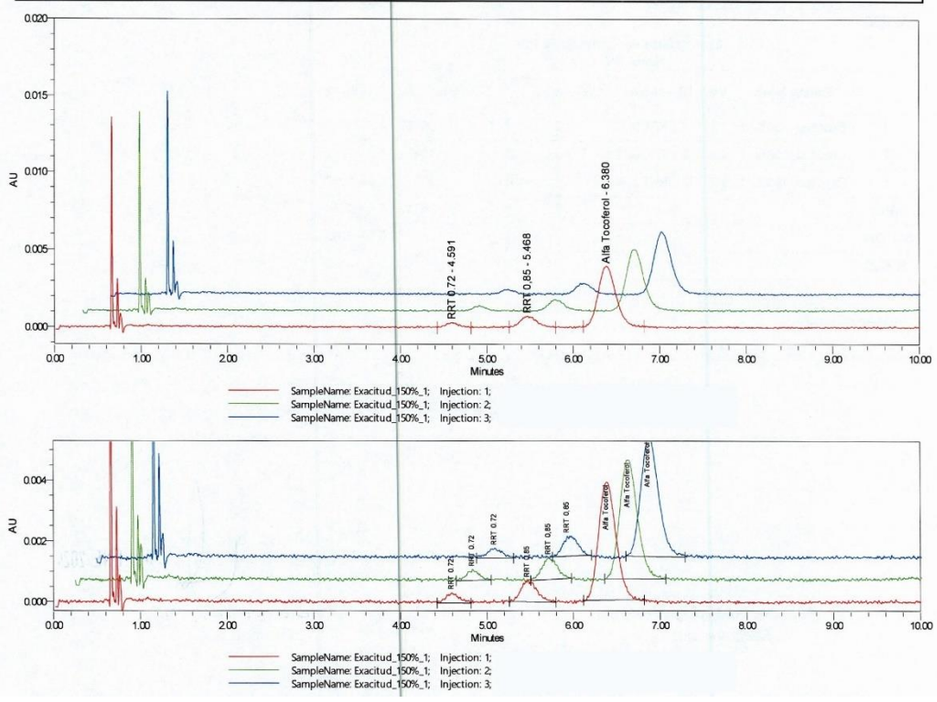
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Exactitud_120%_3	13	1	Alfa Tocoferol	70	1.2	2.7	4742	6.4	44026
2	Exactitud_120%_3	13	2	Alfa Tocoferol	65	1.1	2.5	4511	6.4	44142
3	Exactitud_120%_3	13	3	Alfa Tocoferol	58	1.2	2.6	4547	6.4	44775
Mean					64	1.2	2.6	4600	6.4	44315
Std. Dev.									0.0	403
% RSD									0.1	0.9

Figura H.6. Exactitud – MTA 120%-3.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Exacitud_150%_1	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	15	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

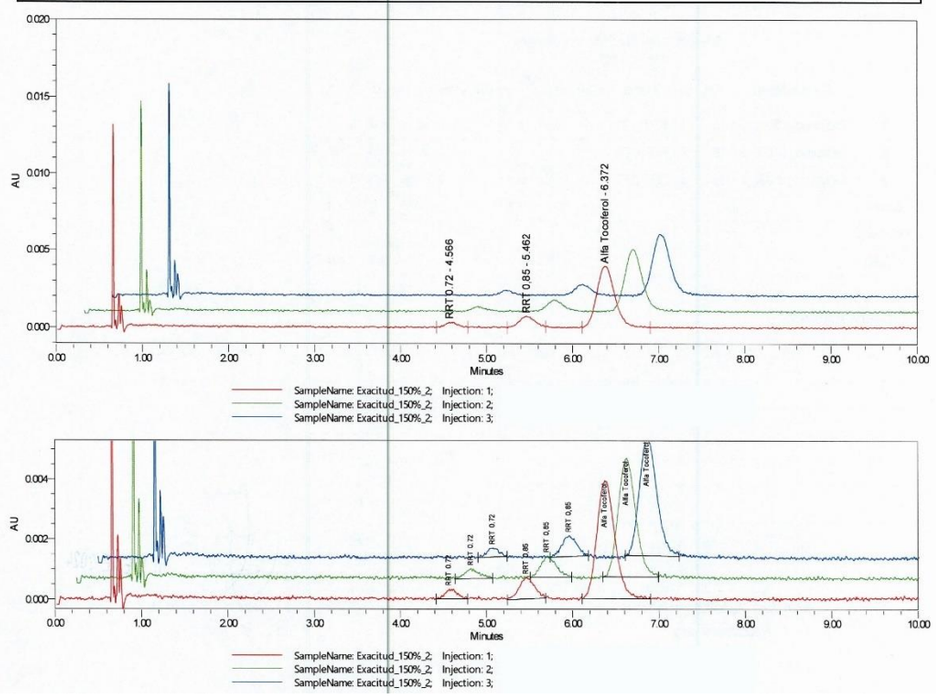
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Exacitud_150%_1	15	1	Alfa Tocoferol	69	1.1	3.0	4677	6.4	55116
2	Exacitud_150%_1	15	2	Alfa Tocoferol	71	1.2	2.4	4814	6.4	56241
3	Exacitud_150%_1	15	3	Alfa Tocoferol	65	1.3	2.6	4473	6.4	56766
Mean					68	1.2	2.7	4655	6.4	56041
Std. Dev.									0.0	843
% RSD									0.1	1.5

Figura H.7. Exactitud – MTA 150%-1.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Exacitud_150%_2	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	16	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

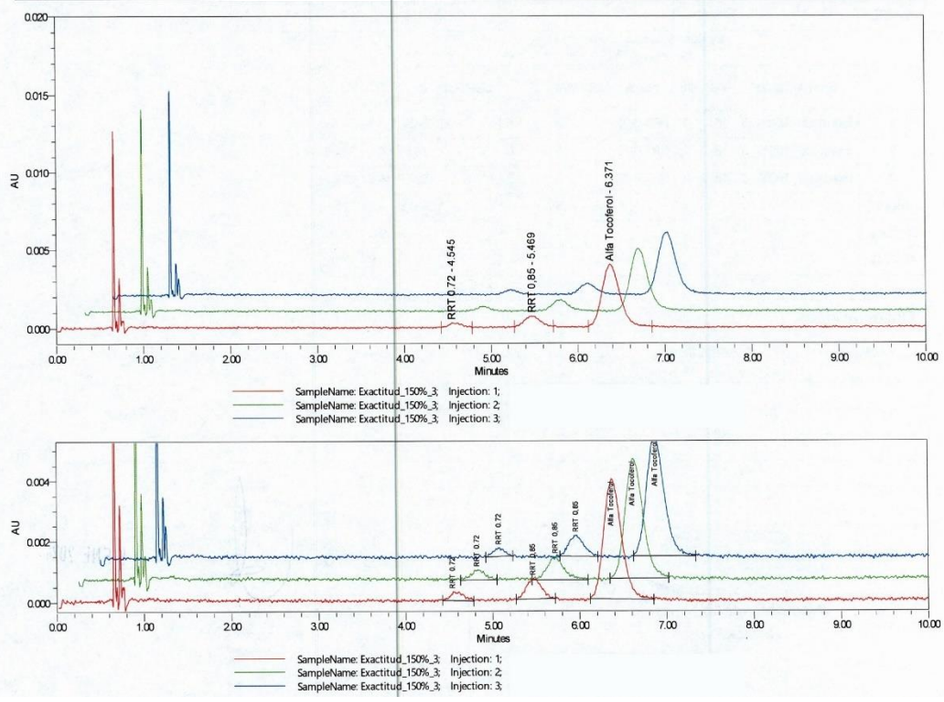
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Exacitud_150%_2	16	1	Alfa Tocoferol	81	1.2	2.7	4450	6.4	57102
2	Exacitud_150%_2	16	2	Alfa Tocoferol	77	1.1	2.6	4448	6.4	55972
3	Exacitud_150%_2	16	3	Alfa Tocoferol	83	1.2	2.6	4631	6.4	55526
Mean					80	1.2	2.6	4509	6.4	56200
Std. Dev.									0.0	813
% RSD									0.0	1.4

Figura H.8. Exactitud – MTA 150%-2.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Exactitud_150%_3	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	18	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

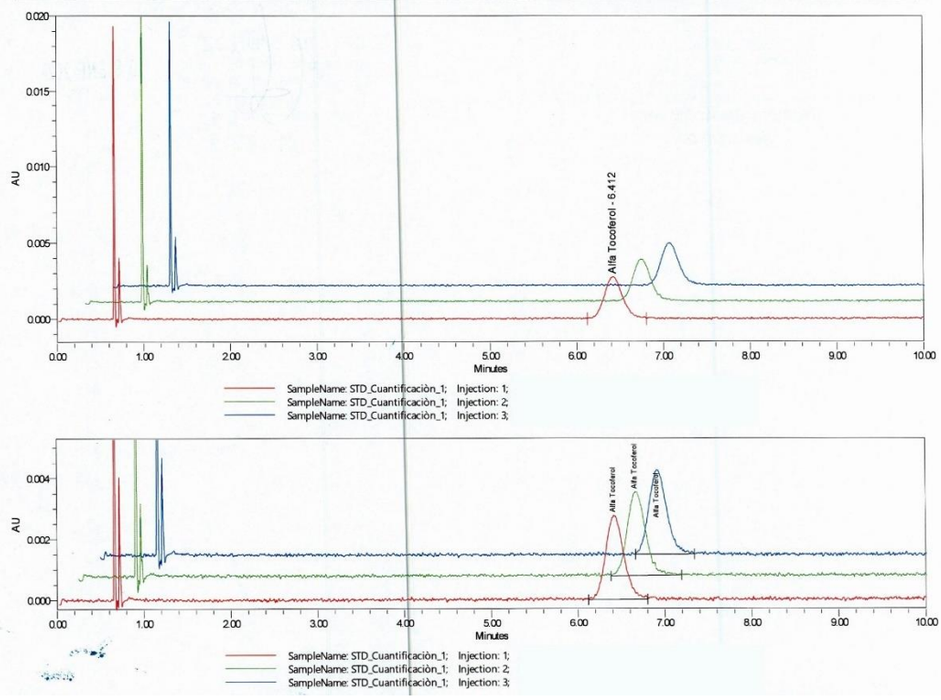
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Resolution	USP Plate Count	RT	Area
1	Exactitud_150%_3	18	1	Alfa Tocoferol	76	1.2	2.5	4597	6.4	55994
2	Exactitud_150%_3	18	2	Alfa Tocoferol	68	1.2	2.5	4567	6.4	56732
3	Exactitud_150%_3	18	3	Alfa Tocoferol	81	1.1	2.6	4558	6.4	56554
Mean					75	1.2	2.5	4574	6.4	56427
Std. Dev.									0.0	385
% RSD									0.1	0.7

Figura H.9. Exactitud – MTA 150%-3.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	STD_Cuantificaciòn_1	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	5	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



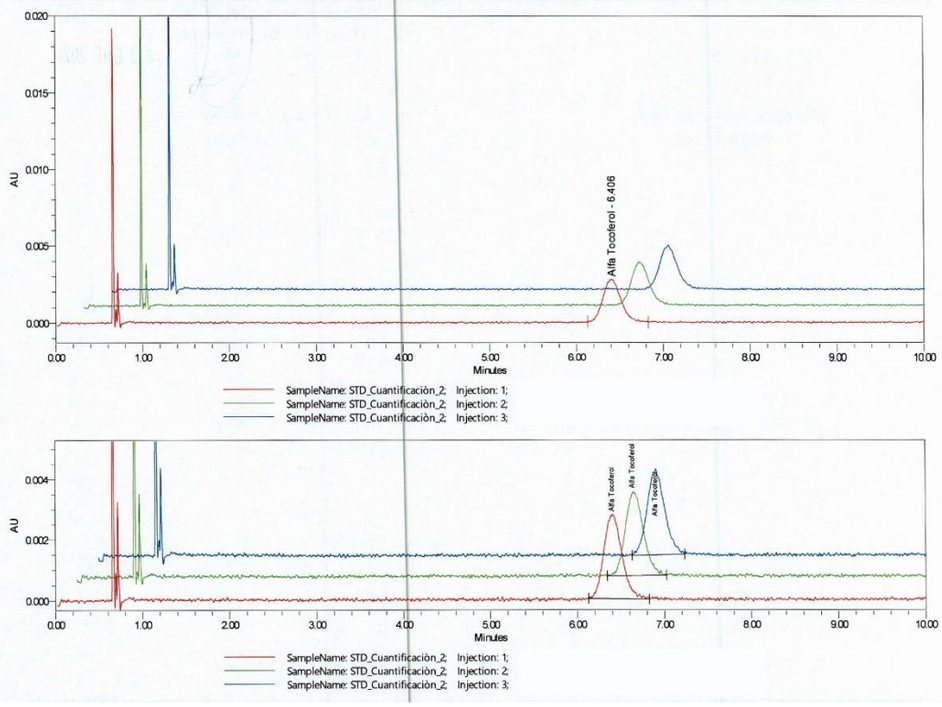
System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Plate Count	RT	Area
1	STD_Cuantificaciòn_1	5	1	Alfa Tocoferol	38	1.1	4612	6.4	40871
2	STD_Cuantificaciòn_1	5	2	Alfa Tocoferol	48	1.2	4384	6.4	40797
3	STD_Cuantificaciòn_1	5	3	Alfa Tocoferol	51	1.2	4323	6.4	40305
Mean					46	1.2	4440	6.4	40658
Std. Dev.								0.0	308
% RSD								0.0	0.8

Figura H.10. Exactitud – STD 1.

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	STD_Cuantificaciòn_2	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	8	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

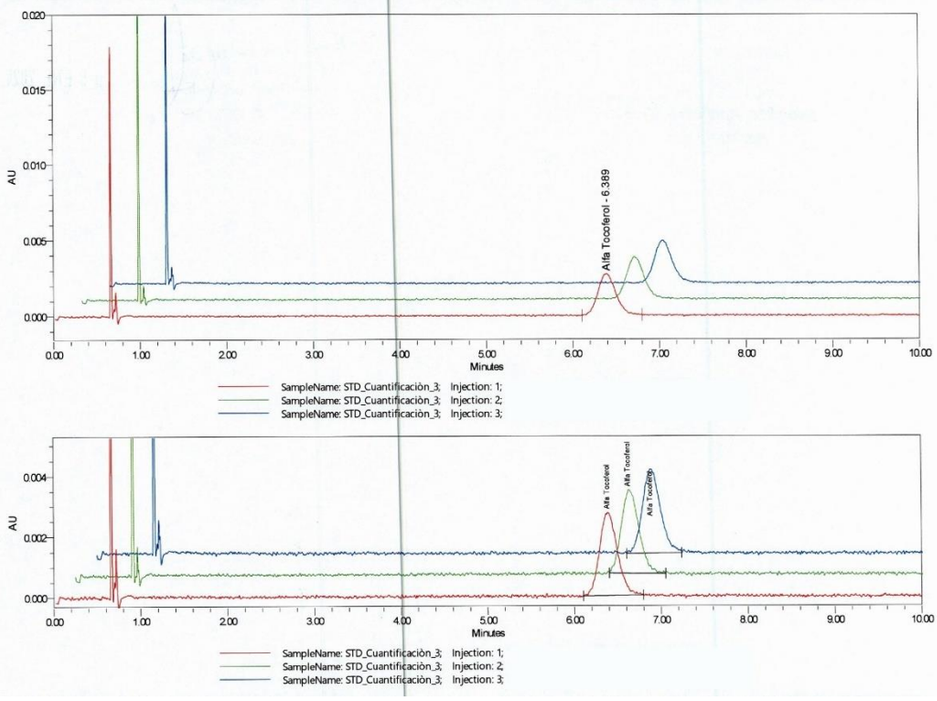
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Plate Count	RT	Area
1	STD_Cuantificaciòn_2	8	1	Alfa Tocoferol	46	1.1	4399	6.4	39921
2	STD_Cuantificaciòn_2	8	2	Alfa Tocoferol	40	1.2	4643	6.4	39893
3	STD_Cuantificaciòn_2	8	3	Alfa Tocoferol	43	1.1	4410	6.4	39942
Mean					43	1.1	4484	6.4	39919
Std. Dev.								0.0	25
% RSD								0.1	0.1

Figura H.11. Exactitud – STD 2.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	STD_Cuantificaciòn_3	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	11	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

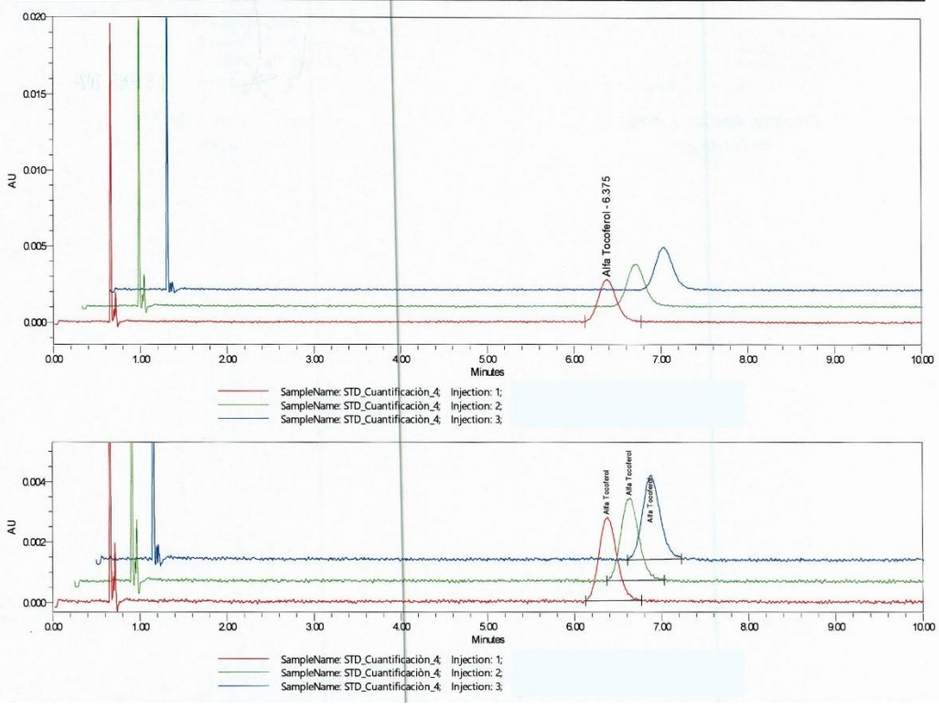
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Plate Count	RT	Area
1	STD_Cuantificaciòn_3	11	1	Alfa Tocoferol	48	1.1	4667	6.4	39690
2	STD_Cuantificaciòn_3	11	2	Alfa Tocoferol	43	1.2	4477	6.4	39010
3	STD_Cuantificaciòn_3	11	3	Alfa Tocoferol	44	1.2	4482	6.4	40436
Mean					45	1.1	4542	6.4	39712
Std. Dev.								0.0	713
% RSD								0.1	1.8

Figura H.12. Exactitud – STD 3.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	STD_Cuantificaciòn_4	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	14	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

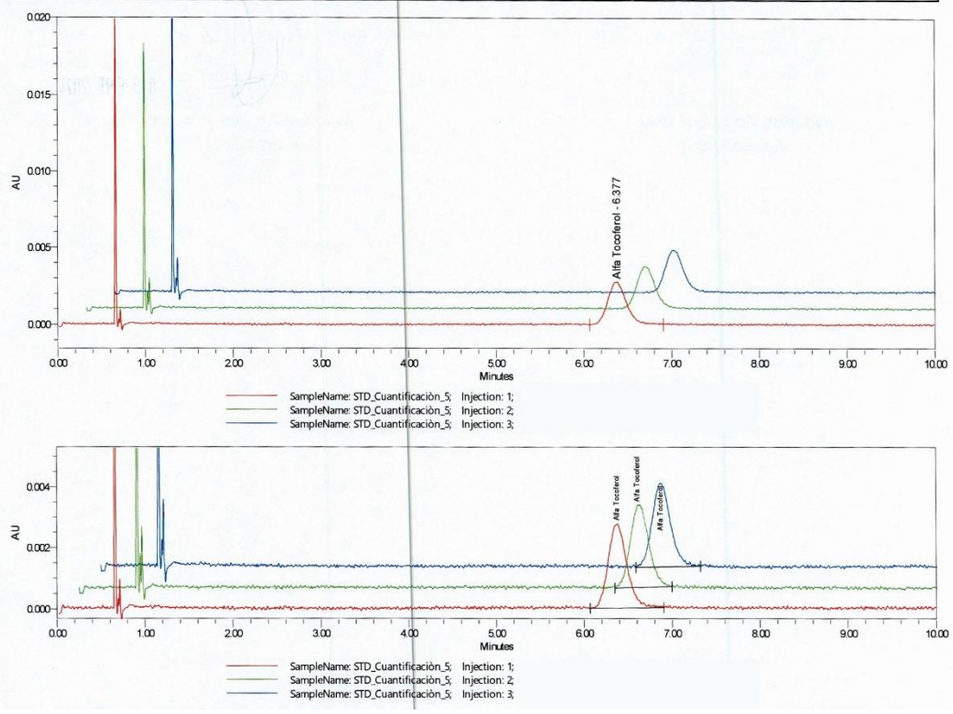
	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Plate Count	RT	Area
1	STD_Cuantificaciòn_4	14	1	Alfa Tocoferol	46	1.1	4671	6.4	39037
2	STD_Cuantificaciòn_4	14	2	Alfa Tocoferol	47	1.1	4532	6.4	39103
3	STD_Cuantificaciòn_4	14	3	Alfa Tocoferol	44	1.1	4177	6.4	39748
Mean					46	1.1	4460	6.4	39296
Std. Dev.								0.0	393
% RSD								0.1	1.0

Figura H.13. Exactitud – STD 4.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	STD_Cuantificaciòn_5	Acquired By:	
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	
Vial:	17	Acq. Method Set:	
Injection #:	1, 2, 3	Processing Method:	
Injection Volume:	20.00 ul	Channel Name:	290.0nm
Run Time:	10.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	2998 PDA 290.0 nm (2998
Date Processed:			

Equipo:	Waters - 11
Columna:	Waters Simmetry® C18,150 x 3,9 mm; 5 um
Pre Columna:	Waters Simmetry® C18, 20 x 3,9 mm; 5 um
T° Columna:	25°C ± 5°C
T° Muestras:	20°C ± 5°C
Flujo:	2,0 mL/min
Fase Móvil:	Acetonitrilo : Metanol : Agua W.F.I (50:50:2) (D)



System Suitability Summary Results
Name: Alfa Tocoferol

	Sample Name	Vial	Inj	Name	USP s/n	USP Tailing	USP Plate Count	RT	Area
1	STD_Cuantificaciòn_5	17	1	Alfa Tocoferol	44	1.2	4350	6.4	40935
2	STD_Cuantificaciòn_5	17	2	Alfa Tocoferol	54	1.2	4487	6.4	39637
3	STD_Cuantificaciòn_5	17	3	Alfa Tocoferol	53	1.1	4291	6.4	40524
Mean					50	1.2	4376	6.4	40365
Std. Dev.								0.0	663
% RSD								0.1	1.6

Figura H.14. Exactitud – STD 5.