

Análisis de disolventes residuales con un sistema GC Agilent Intuvo 9000

Ventaja tecnológica: análisis simplificado de doble columna con modularidad de chip de flujo



Introducción

La farmacopea estadounidense (USP) <467> define un método para el análisis de disolventes residuales en productos farmacéuticos. La elección del disolvente durante la fabricación del producto puede mejorar el rendimiento o afectar a las propiedades químicas del producto sintetizado. Los disolventes no mejoran la eficacia del producto y deben eliminarse en la mayor medida posible para satisfacer las especificaciones del producto y las buenas prácticas de fabricación (GMP)¹. En consecuencia, el análisis de los disolventes residuales durante los procesos de producción o purificación es un aspecto necesario en la fabricación.

La USP <467> especifica el análisis en una sola columna con confirmación en un segundo sistema configurado con una columna analítica diferente que da lugar a tiempos de retención distintos. En los sistemas convencionales de cromatografía de gases, este análisis requiere dos análisis distintos. Un sistema GC Agilent Intuvo 9000 con un divisor de inyector para la detección de ionización de llama (FID) dual permite realizar ambos análisis en un único análisis en la mitad de tiempo.

Para obtener más información, visite:
www.agilent.com

Experimento

Se equipó un sistema GC Intuvo 9000 con un muestreador de espacio de cabeza Agilent 7697A. Se prepararon y evaluaron soluciones de patrones de clase 1, clase 2A y clase 2B de acuerdo con la metodología de la USP <467>. La clase 1 se preparó a partir de una ampolla concentrada Agilent (ref. 5190-0490) diluyendo 1 ml del patrón y 9 ml de dimetilsulfóxido en 100 ml de agua (solución madre 1). La solución madre 2 se preparó diluyendo 1 ml de solución madre 1 en 100 ml con agua. Por último, se diluyeron 10 ml de la solución madre 2 en 100 ml con agua para preparar la solución madre 3. La solución madre 3 se usó para preparados de viales para espacio de cabeza.

Las soluciones Agilent clase 2A (ref. 5190-0492) y clase 2B (ref. 5190-0513) se prepararon diluyendo 1 ml del patrón en 100 ml con agua para las clases respectivas.

Los viales para espacio de cabeza se prepararon añadiendo 1 ml de cada dilución de clase a 5 ml de agua.

Se analizaron muestras replicadas con el muestreador de espacio de cabeza 7697A y el sistema GC Agilent Intuvo 9000 configurado con un divisor de inyector para dos columnas y detección doble.

En las tablas 1 y 2 se muestran los parámetros de los instrumentos, prácticamente iguales que los utilizados en trabajos anteriores². Para reflejar las mejoras de las ofertas de columnas para esta aplicación, se eligieron diferentes columnas: Agilent DB-624 Select Ultra Inert (UI) y Agilent DB-WAX Ultra Inert (UI). La adición del Guard Chip y del bus es exclusiva del sistema GC Intuvo 9000. Debido a la limpieza de la muestra introducida, se eligió el chip puente. Se mantuvo a la temperatura del inyector para transferir la muestra del inyector al divisor del inyector a través del chip puente. El bus se mantuvo en el valor programado por defecto.

Tabla 1. Se indican las condiciones del instrumento para el sistema GC Agilent Intuvo 9000.

Sistema GC Agilent Intuvo 9000	Valor programado
Horno	40 °C (5 minutos) 15 °C/min hasta 180 °C (3 minutos)
Inyector split/splitless	Divisor 5:1, 140 °C
DB-624 Select Ultra Inert (123-0334UI-INT) 30 m × 320 µm, 1,8 µm	Flujo constante: 2 ml/min
DB-WAX Ultra Inert (123-7032UI-INT) 30 m × 320 µm, 0,25 µm	Controlado por la columna 1
FID (frontal y trasero)	250 °C
H ₂	30 ml/min
Aire	400 ml/min
N ₂ (auxiliar)	25 ml/min
Chip puente	140 °C
Bus	200 °C
Señal frontal/trasera	20 Hz

Tabla 2. Se indican las condiciones del instrumento para el muestreador de espacio de cabeza Agilent 7697A.

Muestreador de espacio de cabeza Agilent 7697A	Valor programado
Horno	85 °C
Loop	85 °C
Línea de transferencia	100 °C
Tiempo de equilibrio del vial	40 minutos
Duración de la inyección	0,5 minutos
Tamaño del vial	10 ml
Agitación del vial	Nivel 2, 25 agitaciones/min
Modo de llenado del vial	Predeterminado (50 ml/min a 15 psi (0,1 minutos))
Presión de llenado del vial	15 psi
Velocidad de rampa de loop	20 psi/min
Presión final de loop	0 psi
Tiempo de equilibrio de loop	0,05 minutos



Muestreador de espacio de cabeza Agilent 7697A.

Resultados y comentarios

Se prepararon nueve viales de espacio libre para cada patrón de disolvente (clases 1, 2A y 2B) y se evaluó la reproducibilidad (área y tiempo de retención). Se logró una excelente reproducibilidad del tiempo de retención en ambas columnas en las tres clases evaluadas. La mayoría de los analitos dieron una desviación estándar relativa (RSD) < 0,1 % para la reproducibilidad del tiempo de retención. La reproducibilidad del área también fue buena, y dio una RSD del 5 % o mejor para todos los analitos en ambas columnas. La mayoría de los analitos fueron un 2 % o mejores para la RSD del área. En las Tablas 1 a 3 se indican los tiempos de retención y las medidas de reproducibilidad del área de las tres clases en columnas dobles.

La clase 1 mostró las RSD más altas para el área (Tabla 3). Debido a las diluciones multietapa de la clase 1, la concentración final es la más baja de las tres clases evaluadas. Esta dilución da lugar a una mayor variabilidad, ya que es una medida de la reproducibilidad de la preparación de muestras, la precisión del instrumento y la uniformidad en la integración de picos.

La clase 2A dio lugar a la mejor precisión del área (Tabla 4). Esto se debe probablemente a la concentración evaluada, que era superior a la clase 1 o a la clase 2B. La clase 2B tiene una gama más amplia de concentraciones, lo que se refleja en la gama más amplia de RSD del área que se obtiene (Tabla 5). Para los analitos en menor concentración o con un mayor grado de asimetría (*n*-hexano, nitrometano y 1,2-dimetoxietano), las RSD del área son ligeramente más altas que las que presentan respuestas altas y picos simétricos (tetralin). La reproducibilidad del tiempo de retención fue excelente independientemente de la clase, respuesta o simetría. Exceptuando el nitrometano (0,4 %), todos los analitos tuvieron una reproducibilidad del tiempo de retención del 0,2 % o mejor y la mayoría de los analitos fueron incluso más precisos, con <0,1 %.

Tabla 3. Precisión del tiempo de retención y reproducibilidad del área de pico para compuestos de clase 1 evaluados con el divisor del inyector en el sistema GC Agilent Intuvo 9000.

Compuesto	RSD del tiempo de retención de Agilent DB-624 (%)	RSD del área de Agilent DB-624 (%)	RSD del tiempo de retención de Agilent DB-WAX (%)	RSD del área de Agilent DB-WAX (%)
1,1-dicloroetano	0,031 %	3,3 %	0,074 %	2,1 %
1,1,1-tricloroetano	0,026 %	2,6 %	0,037 %	1,8 %
Tetracloruro de carbono	0,11 %	4,8 %	Coeluye con 1,1,1-tricloroetano	Coeluye con 1,1,1-tricloroetano
Benceno	0,017 %	2,2 %	0,055 %	1,5 %
1,2-dicloroetano	0,016 %	3,9 %	0,067 %	1,8 %

Tabla 4. Precisión del tiempo de retención y reproducibilidad del área de pico para compuestos de clase 2A evaluados con el divisor del inyector en el sistema GC Agilent Intuvo 9000.

Compuesto	RSD del tiempo de retención de Agilent DB-624 (%)	RSD del área de Agilent DB-624 (%)	RSD del tiempo de retención de Agilent DB-WAX (%)	RSD del área de Agilent DB-WAX (%)
Metanol	0,23 %	1,3 %	0,22 %	1,3 %
Acetonitrilo	0,023 %	2,1 %	0,039 %	2,0 %
Cloruro de metileno	0,018 %	0,98 %	0,033 %	0,78 %
<i>trans</i> -1,2-dicloroetano	0,016 %	0,85 %	0,023 %	0,72 %
<i>cis</i> -1,2-dicloroetano	0,012 %	0,76 %	0,039 %	0,78 %
Tetrahidrofurano	0,018 %	0,95 %	Coeluye con cloruro de metileno	Coeluye con cloruro de metileno
Ciclohexano	0,011 %	0,96 %	0,013 %	0,96 %
Metilciclohexano	0,0087 %	0,98 %	0,018 %	0,96 %
1,4-dioxano	0,012 %	1,9 %	0,025 %	1,7 %
Tolueno	0,0073 %	0,81 %	0,029 %	0,80 %
Clorobenceno	0,0061 %	0,69 %	0,024 %	0,69 %
Etilbenceno	0,0060 %	0,84 %	0,016 %	0,86 %
<i>m</i> -xileno	0,0061 %	0,82 %	0,017 %	0,82 %
<i>p</i> -xileno	Coeluye con <i>m</i> -xileno	Coeluye con <i>m</i> -xileno	0,015 %	0,83 %
<i>o</i> -xileno	0,0059 %	0,81 %	0,026 %	0,81 %

Tabla 5. Precisión del tiempo de retención y reproducibilidad del área para compuestos de clase 2A evaluados con el divisor del inyector en el sistema GC Agilent Intuvo 9000.

Compuesto	RSD del tiempo de retención de Agilent DB-624 (%)	RSD del área de Agilent DB-624 (%)	RSD del tiempo de retención de Agilent DB-WAX (%)	RSD del área de Agilent DB-WAX (%)
Hexano	0,021 %	4,4 %	0,039 %	4,5 %
Nitrometano	0,42 %	4,9 %	0,018 %	2,5 %
Cloroformo	0,0099 %	4,8 %	0,026 %	3,2 %
1,2-dimetoxietano	0,013 %	3,6 %	0,089 %	3,6 %
Tricloroetano	0,010 %	3,4 %	0,028 %	3,1 %
Piridina	0,020 %	1,7 %	0,034 %	1,7 %
2-hexanona	0,0081 %	2,7 %	0,020 %	0,74 %
Tetralin	0,0078 %	2,1 %	0,016 %	2,1 %

El análisis de doble columna logrado con el muestreador de espacio de cabeza 7697A y el sistema GC Intuvo 9000 también proporcionó un excelente rendimiento cromatográfico y demostró las ventajas de realizar el análisis en ambas columnas simultáneamente. En la clase 1, el tetracloruro de carbono muestra una relación señal-ruido adecuada para satisfacer los requisitos

de la USP <467> (Figura 1). Tanto la columna DB-624 Select UI como la DB-WAX UI muestran una excelente simetría de pico y respuestas similares en ambas columnas. La separación entre 1,1,1-tricloroetano y tetracloruro de carbono en la DB-624 Select UI y su ausencia en la DB-WAX UI (Figura 2) dan ejemplo de la utilidad de evaluar ambas columnas simultáneamente.

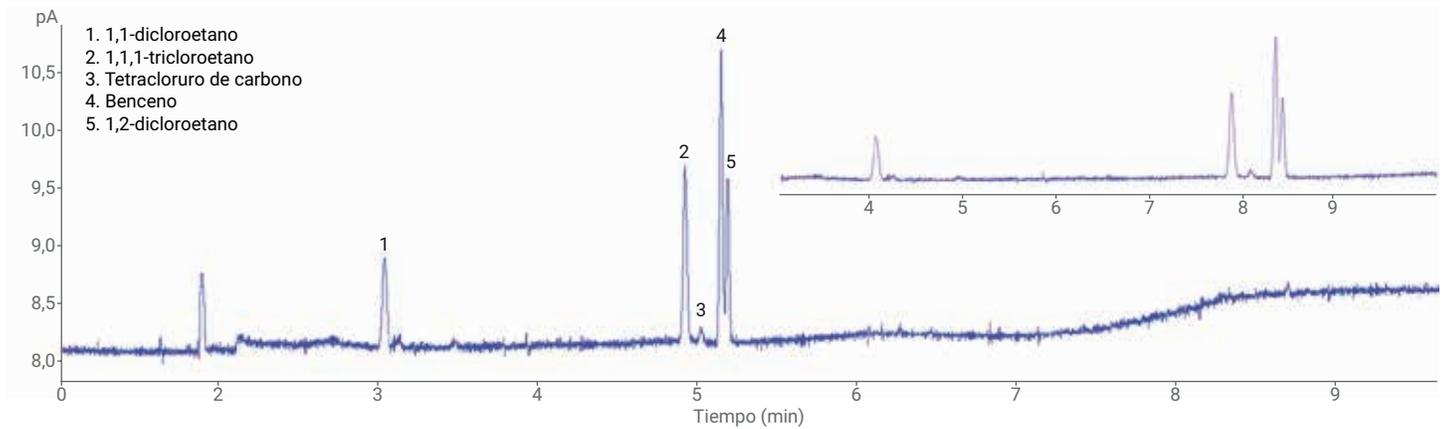


Figura 1. El análisis de disolventes residuales de clase 1 en una columna Agilent DB-624 Select UI demuestra una excelente cromatografía y cumple los requisitos de la relación señal ruido para todos los disolventes, incluido el tetracloruro de carbono.

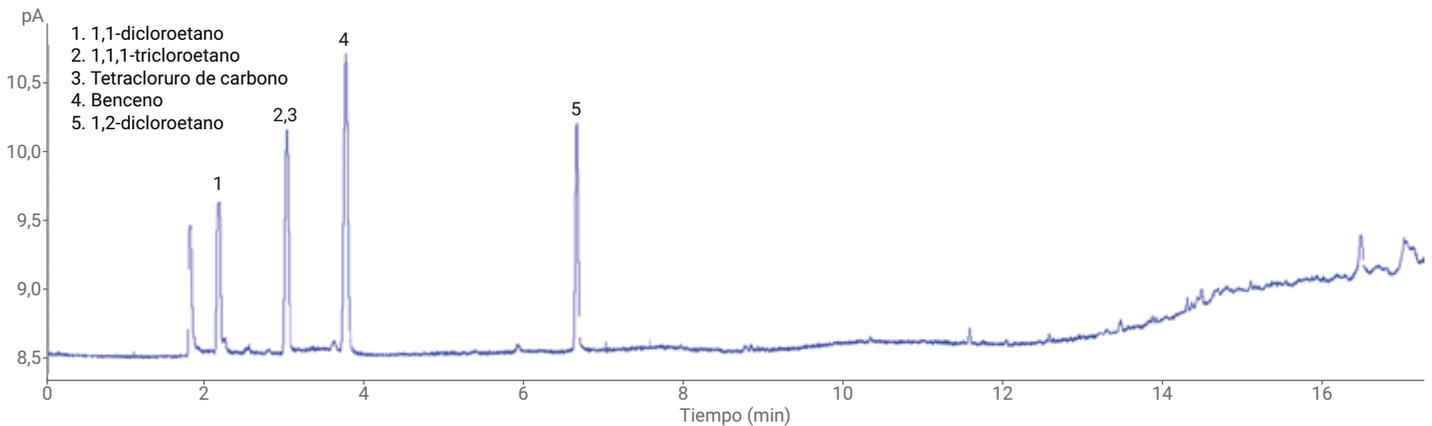


Figura 2. El análisis de compuestos de clase 1 en Agilent DB-WAX UI produce el mismo orden de elución que una columna Agilent DB-624 Select UI, aunque los tiempos de retención hayan cambiado, como se esperaba.

La clase 2A también demostró una excelente simetría de pico para los disolventes evaluados. Se observaron cambios significativos en el orden de elución entre las columnas DB-624 Select UI y DB-WAX UI, como es de esperar debido a las diferentes fases estacionarias (Figuras 3 y 4). A diferencia de los disolventes de clase 1, donde se logró una mejor resolución para los analitos críticos (tetracloruro de carbono) en la columna

DB-624 Select UI, la columna DB-Wax UI proporcionó una mejor resolución de los isómeros de xileno incluidos en la clase 2A. Esto pone de relieve la ventaja de realizar el análisis en ambas columnas simultáneamente. La DB-624 Select UI, que muestra un mejor rendimiento de la clase 1, y la DB-WAX UI, que muestra un mejor rendimiento de la clase 2A, se pueden analizar en un sistema, lo que proporciona una cromatografía óptima para ambas clases.

La clase 2B es el último ejemplo de las ventajas de utilizar un conjunto de doble columna para disolventes residuales de la USP <467>. El nitrometano produce una respuesta baja y una forma de pico no simétrica en la columna DB-624 Select UI (Figura 5, pico 2). Sin embargo, en la columna DB-WAX UI mejoran la forma del pico y la respuesta (Figura 6). Esto también se ve reflejado en la mejora en la RSD del área del nitrometano entre las columnas DB-624 Select UI y DB-WAX UI.

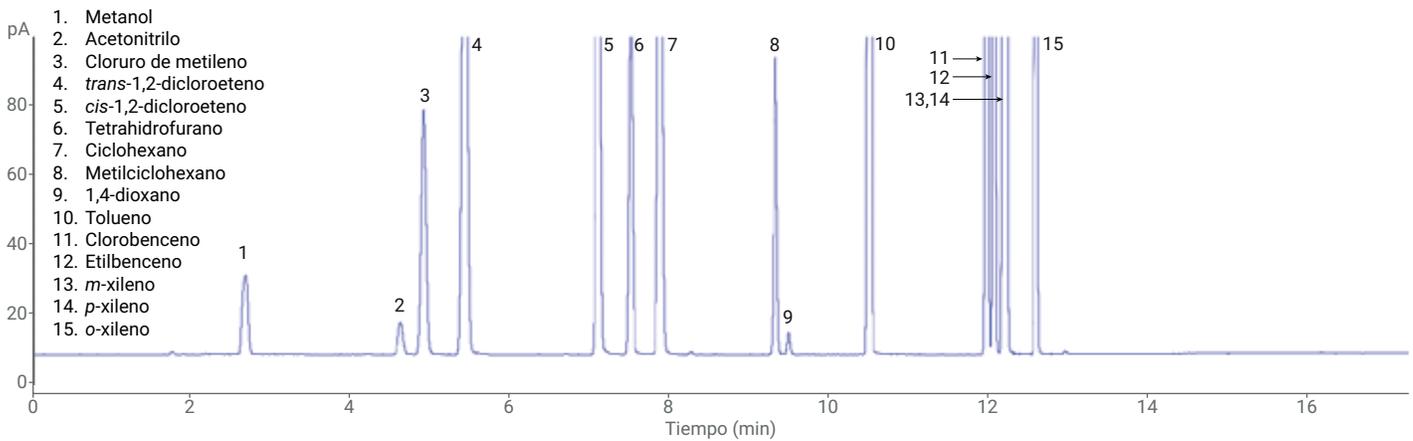


Figura 3. El análisis de la clase 2A en una columna Agilent DB-624 Select UI muestra una forma de pico excelente.

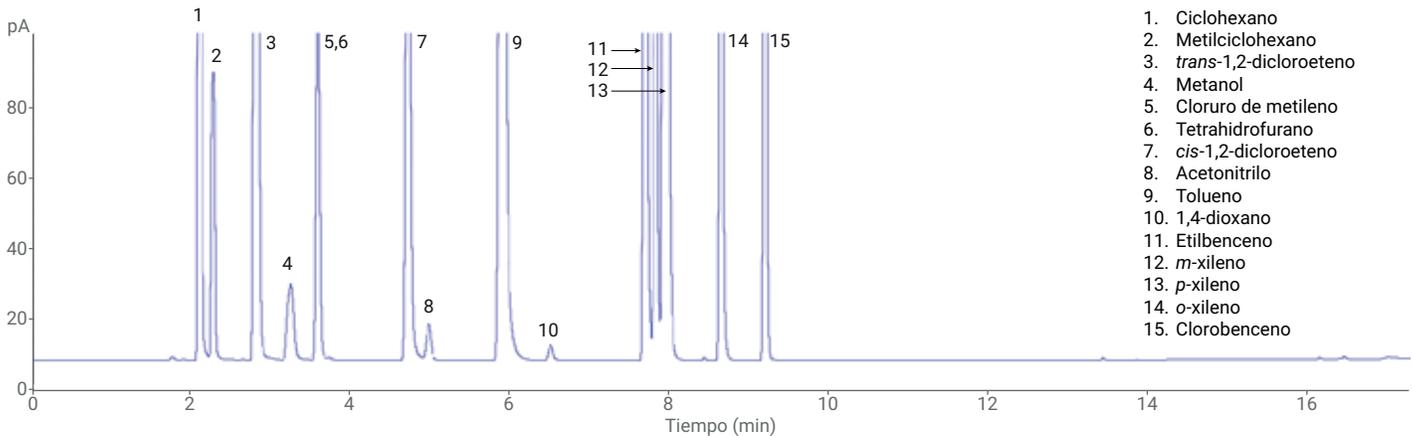


Figura 4. El análisis de la clase 2A en una columna Agilent DB-WAX UI muestra cambios en el orden de elución.

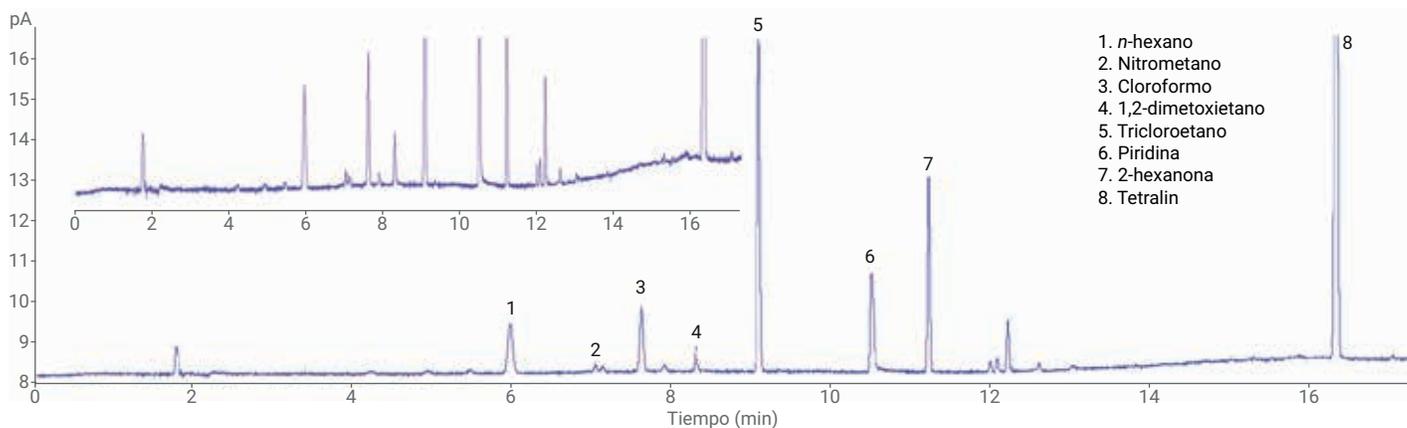


Figura 5. El análisis de disolventes residuales de clase 2B en una columna Agilent DB-624 Select UI demuestra una forma de pico excelente en una amplia gama de respuestas.

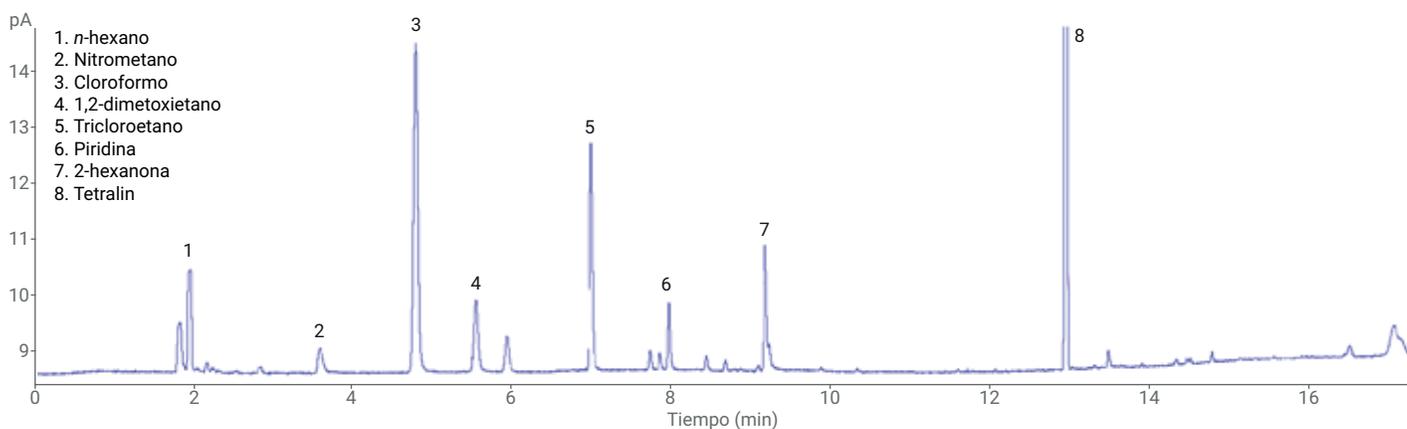


Figura 6. El análisis de disolventes residuales de clase 2B en una columna Agilent DB-WAX UI muestra una forma de pico mejorada para el nitrometano.

Conclusiones

El sistema GC Agilent Intuvo 9000 equipado con el muestreador de espacio de cabeza Agilent 7697A configurado como un sistema FID dual de doble columna ofrece una excelente reproducibilidad. Los resultados obtenidos con este sistema son congruentes con los resultados publicados anteriormente sobre la USP <467> en los sistemas GC convencionales de una sola columna^{2,3}. La precisión del área de los nueve viales para espacio de cabeza fue del 5 % o mejor y la reproducibilidad del tiempo de retención fue del 0,2 % o mejor.

La evaluación de disolventes residuales de la USP <467> con un conjunto de doble columna ofrece más ventajas. Mientras que los disolventes residuales de clase 1 mostraron la mejor resolución en las columnas Agilent DB-624 Select UI, los isómeros de xileno de clase 2A se resolvieron completamente en las columnas Agilent DB-WAX UI. Configurando un sistema GC Intuvo 9000 con un divisor de inyector, ambas columnas pueden ejecutarse simultáneamente para aprovechar las mejoras cromatográficas logradas con dos fases estacionarias. Esta

configuración elimina la necesidad de analizar las muestras en dos sistemas con dos columnas diferentes, reduciendo potencialmente el tiempo total de análisis a la mitad.

El muestreador de espacio de cabeza 7697A combinado con el sistema GC Intuvo 9000 configurado con un divisor de inyector para el análisis FID dual de doble columna ofrece una forma robusta y sencilla de analizar disolventes residuales de la USP <467> a la vez que reduce el tiempo de análisis.

Referencias

1. USP 40, general chapter USP <467> Residual Solvents, <https://hmc.usp.org/sites/default/files/documents/HMC/GCs-Pdfs/c467.pdf> (accessed October 2017).
2. Firor, R. L. Analysis of USP <467> residual solvents with improved repeatability using the Agilent 7697A Headspace Sampler, *Agilent Technologies Application Note*, 5990-7625EN, August **2012**.
3. B. Tienport, F. David, P. Sandra. Analysis of USP <467> residual solvents using the Agilent 7697A Headspace Sampler with the Agilent 7890B Gas Chromatograph, *Agilent Technologies Application Note*, 5991-1834EN, January **2013**.

www.agilent.com/chem/intuvo

Esta información está sujeta a cambios sin previo aviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2018
Publicado en EE. UU., 23 de febrero de 2018
5991-9029ES