Nota de aplicación

Análisis de desinfectantes de manos con el sistema GC Agilent 8860 configurado con un detector de ionización de llama

Autor

Jie Zhang
Agilent Technologies, Inc.

Resumen

En esta nota de aplicación se describe el análisis de desinfectantes de manos basados en etanol e isopropanol. Se utilizó la columna Agilent DB-WAX J&W para optimizar la resolución cromatográfica y la forma de pico. Para la detección se usó el detector de ionización de llama (FID). Para la cuantificación, se utilizó un patrón de calibración interno (PI), basándose en las recomendaciones del método <611> de la Farmacopea de Estados Unidos (USP). La idoneidad del instrumento se investigó en términos del factor de cola de pico, de la resolución del alcohol con respecto al patrón interno y de la reproducibilidad de la cuantificación.

Introducción

El etanol y el isopropanol (IPA) son los principales componentes activos de los desinfectantes de manos. Con el fin de mantener la eficacia, la concentración del etanol o del isopropanol deben permanecer en un rango adecuado, que normalmente está entre el 65 y el 75 % según la etiqueta del envase. Dado que otros alcoholes también podrían estar presentes en los productos del desinfectante como impurezas o como adiciones inadecuadas en el caso de productos adulterados, es importante la medida de los alcoholes correctos en los niveles de concentración adecuados. La cromatografía de gases (CG) es una de las técnicas recomendadas por la USP para la determinación de la concentración de alcoholes. La CG también puede ofrecer información sobre el tiempo de retención para verificar la identidad del alcohol, asegurando que el desinfectante de manos no se haya contaminado. Con la capacidad de análisis cualitativo y cuantitativo, la cromatografía de gases continúa desempeñando un papel esencial en el control de calidad del desinfectante de manos.

Los métodos para la determinación de alcoholes, como USP <611>[1] y ASTM D3695,[2] recomiendan una columna polar o de polaridad media para una buena separación y respuesta de los componentes alcohólicos. Basándonos en nuestro trabajo anterior,[3] las columnas Agilent J&W DB-Wax o Agilent DB-624 Ultra Inert pueden proporcionar formas de pico más estrechas y simétricas para los alcoholes. Se recomienda un detector de ionización de llama para la detección de alcoholes debido a que es fácil de usar y puede generar una respuesta estable y adecuada dentro del rango de concentración probado una vez diluidos los alcoholes durante el proceso de preparación de muestras. En este trabajo, se ha usado una columna DB-WAX Ultra Inert en un sistema GC Agilent 8860 junto con un detector FID para el análisis de alcohol. El rendimiento del sistema se ha evaluado en términos de reproducibilidad del tiempo de retención, resolución de los picos, factor de cola de pico y precisión de la cuantificación. Esto se ha realizado para demostrar la idoneidad del sistema GC 8860/FID acoplado con una columna Agilent Ultra Inert para el análisis de alcoholes en desinfectante de manos.

Experimento

El sistema GC Agilent 8860 está equipado con un inyector split/splitless y un detector FID. La introducción de muestras líquidas se realizó utilizando un inyector automático de líquidos Agilent serie 7693A con una jeringa de 5 µl. Los parámetros analíticos se muestran en la Tabla 1.

Productos químicos y patrones

Los disolventes alcohólicos y el acetonitrilo (PI) se compraron a ANPEL Scientific Instrument (Shangái). La solución de trabajo de glicerina se preparó pesando 58,4 mg de glicerina (aproximadamente 50 µl) y diluyendo en agua destilada hasta 1 ml. La concentración volumétrica calculada para la solución de trabajo de glicerina fue del 4,6 % (v/v). Los patrones de calibración de alcoholes se prepararon añadiendo alícuotas de alcoholes puros o de su solución de trabajo a agua destilada, con un volumen final de 1 ml. El etanol, el isopropanol y la glicerina se encuentran en las soluciones de calibración del grupo 1. El rango de calibración para etanol e isopropanol estuvo entre el 1 y el 4 % (v/v). La concentración de glicerina estuvo entre el 0,01 y el 0,18 % (v/v). El metanol y el *n*-propanol (n-PA) se prepararon en soluciones de calibración del grupo 2. El rango de calibración para el metanol estuvo entre el 1 y el 4 % (v/v) y el del *n*-propanol, entre el 0,1 y el 1,5 % (v/v) . El patrón interno (PI) acetonitrilo (ACN) se añadió a las soluciones de calibración a una concentración del 5 % (v/v). Las soluciones de calibración se prepararon tal y como se muestra en la Tabla 2. La muestra de control de calidad se preparó diluyendo 25 µl de etanol, 25 µl de isopropanol y 50 µl de acetonitrilo hasta 1 ml en agua destilada.

La muestra de gel del desinfectante de manos era demasiado viscosa para la inyección líquida directa y tuvo que diluirse antes de su inyección en el muestreador automático de líquidos 7693A. Por este motivo, las muestras reales y los patrones de calibración se prepararon con dilución del disolvente. La muestra de desinfectante de manos de 50 µl se dispensó en un matraz utilizando una jeringa hermética a gases de 1 ml. A continuación, se añadieron 50 µl de acetonitrilo como PI, y la muestra se diluyó hasta 1 ml con agua destilada para su posterior análisis.

Tabla 1. Parámetros analíticos de un sistema GC-FID Agilent 8860 en patrones de alcoholes.

Parámetros del sistema GC Agilent 8860	
Inyector S/SL	250 °C, relación de split de 20:1
Volumen de inyección	0,2 µl
Gas portador	He
Flujo de la columna	Modo de flujo constante de 7 ml/min
Horno	50 °C (5 min) y rampa de 30 °C/min hasta 230 °C (3 min)
FID	250 °C, aire: 400 ml/min, gas combustible (H_2): 30 ml/min, gas auxiliar (N_2): 18 ml/min
Columna	Agilent J&W DB-WAX UI, 30 m, 530 µm, 1 µm (ref. 125-7032UI)
Liner de inyección	Ultra Inert de Agilent, baja caída de presión con lana de vidrio (ref. 5190-2295)

Resultados y comentarios

La nota de aplicación se centró en el análisis de los principales componentes alcohólicos y la posible contaminación con metanol en el desinfectante de manos. En el patrón de calibración se incluyeron cinco tipos de alcoholes: metanol, etanol, isopropanol, *n*-propanol y glicerina. Entre ellos, las concentraciones de etanol, isopropanol y *n*-propanol suelen aparecer en la etiqueta por estar muy relacionadas con la eficacia a la hora de eliminar virus. En las muestras reales se pueden detectar glicerina y otros tipos de alcoholes, pero los fabricantes de estos productos no indican en la etiqueta su concentración específica. La inclusión de la glicerina en el patrón de calibración tiene como objetivo mostrar de qué modo el sistema descrito puede generar un pico decente y proporcionar una detección adecuada de alcoholes viscosos y de elución tardía, como la glicerina.

La separación de cinco alcoholes y un patrón interno en disolución acuosa con una concentración de los componentes que variaba entre el 1,0 y el 4 % (v/v) se realizó en la columna DB-WAX Ultra Inert. Esta muestra fue una mezcla del patrón de calibración de nivel medio del grupo 1 y el del grupo 2 con glicerina como patrón de trabajo. Como se muestra en el cromatograma (Figura 1) y en la Tabla 3, los factores de cola de todos los picos fueron inferiores a 1,2. El metanol y el isopropanol eluyeron antes que el etanol. La resolución del *n*-propanol con respecto al acetonitrilo (PI) fue de 9, mientras que la del etanol con respecto al acetonitrilo fue de 12. El patrón de la USP <611> requiere factores de cola de pico de alcohol inferiores a 2,0 y resoluciones de los picos con respecto al patrón interno de más de 4,0. La resolución y forma de pico conseguidas en el sistema GC 8860, comenzando la ruta de flujo desde el inyector S/SL, pasando por la columna analítica y terminando en el detector FID, demostró que el sistema era apto para el análisis de los alcoholes buscados.

La resolución del etanol y del isopropanol fue de 1,31. No se trata de una separación en línea de base, pero habitualmente no afecta a la precisión de la cuantificación de etanol o isopropanol, considerando que en la mayoría de los casos no coexisten en el mismo desinfectante de manos. Aunque coexisteran, la resolución 1,31 es suficiente para ofrecer una

Tabla 2. Preparación de los patrones de calibración de alcoholes.

N.º nivel	Patrones de calibración del grupo uno			Patrones de calibración del grupo dos	
	Etanol (µl)	Isopropanol (µl)	Solución de trabajo de glicerina (µl)	Metanol (µl)	*n*-Propanol (µl)
1	40 (4,0 %)	10 (1,0 %)	2 (0,0092 %)	49 (4,9 %)	1 (0,1 %)
2	35 (3,5 %)	15 (1,5 %)	5 (0,023 %)	45 (4,5 %)	5 (0,5 %)
3	30 (3,0 %)	20 (2,0 %)	10 (0,046 %)	40 (4,0 %)	10 (1,0 %)
4	25 (2,5 %)	25 (2,5 %)	20 (0,092 %)	35 (3,5 %)	15 (1,5 %)
5	20 (2,0 %)	30 (3,0 %)	40 (0,184 %)	30 (3,0 %)	NA
6	15 (1,5 %)	35 (3,5 %)	NA	25 (2,5 %)	
7	10 (1,0 %)	40 (4,0 %)		20 (2,0 %)	
8	NA	NA		15 (1,5 %)	
9				10 (1,0 %)	

El volumen final de la solución de calibración en los diferentes niveles fue de 1 ml. Las concentraciones de alcoholes en los diferentes niveles se muestran como valores entre paréntesis.

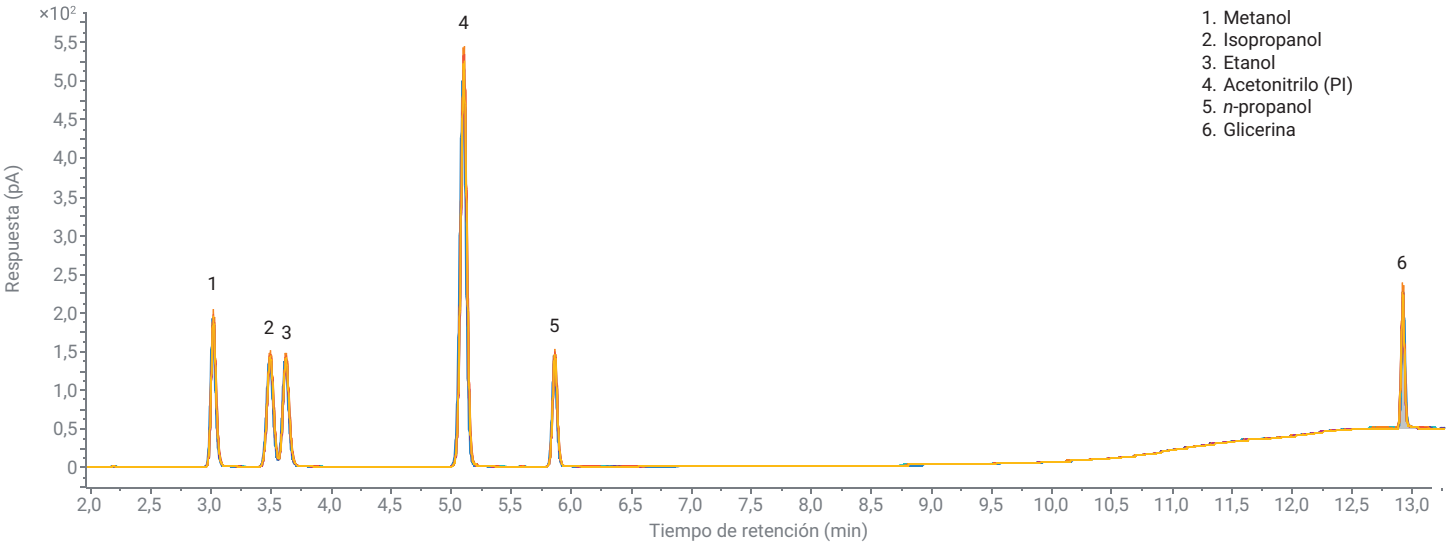


Figura 1. Cromatograma superpuesto de los patrones de alcoholes analizados en un sistema GC-FID Agilent 8860 que llevaba instalada una columna Agilent DB-WAX Ultra Inert.

cuantificación precisa sobre el alcohol principal, que puede mostrarse en el siguiente resultado del análisis en una muestra de gel desinfectante de manos.

Las curvas de calibración de los alcoholes se desarrollaron usando un método de calibración con patrón interno. Como se muestra en la Figura 2 y en la Tabla 3, los coeficientes de correlación (R^2) para los alcoholes en todo su rango de calibración estuvieron entre 0,997 y 0,999.

La precisión de la cuantificación se evaluó mediante siete inyecciones de mezcla de alcoholes, estando cada alcohol en un rango de entre el 1 y el 2 % (v/v). Los cromatogramas superpuestos se muestran en la Figura 1. Las precisiones de la cuantificación se evaluaron basándose en la desviación estándar relativa (RSD) de la relación de respuesta de los alcoholes con respecto al acetonitrilo durante las siete inyecciones. En la mayoría de los casos, la precisión de la cuantificación fue mejor del 1 %, salvo para el caso de la glicerina, con una RSD del 1,7 %. La norma USP <611> precisa una RSD no superior al 4,0 % en la proporción del pico del alcohol con respecto al pico del patrón interno. El rendimiento de la precisión en la plataforma probada superó el requisito de la USP <611>.

Se llevó a cabo el análisis de alcohol en dos geles desinfectantes de manos y en un espray desinfectante de fabricantes diferentes. Los cromatogramas de los tres productos se muestran en la Figura 3. Los resultados de la prueba de los alcoholes principales en cada muestra se tabulan en las tablas de los recuadros. Para la muestra 1 del gel desinfectante se identificaron etanol, *n*-propanol y glicerina. Las concentraciones analizadas de etanol, *n*-propanol y glicerina fueron 61,0 % (v/v), 10,4 % (v/v) y 0,3 % (v/v). La concentración de etanol y *n*-propanol indicada por el fabricante en la etiqueta era del 54 al 66 % (v/v) y del 9 al 11 % (v/v). Para la muestra de gel 1, la concentración medida coincidió bastante bien con la indicada en la etiqueta.

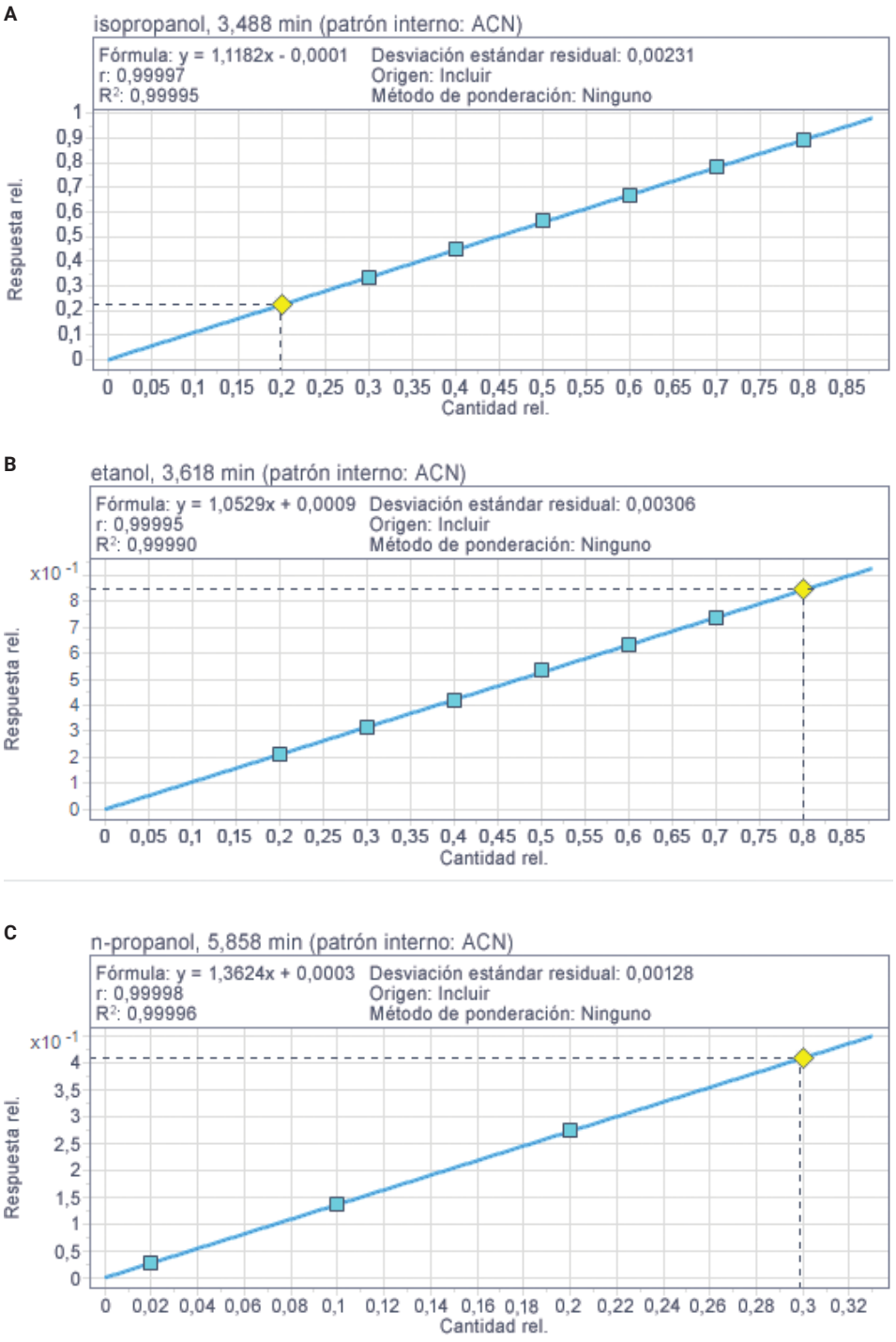
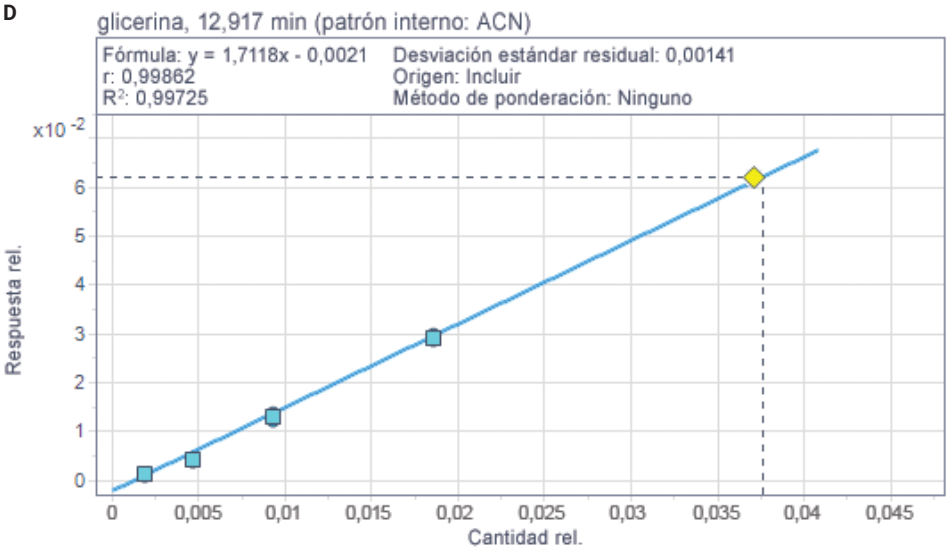


Figura 2A, B, C. Curvas de calibración de isopropanol (A), etanol (B) y *n*-propanol (C), con coeficientes de correlación superiores a 0,999.

D



E

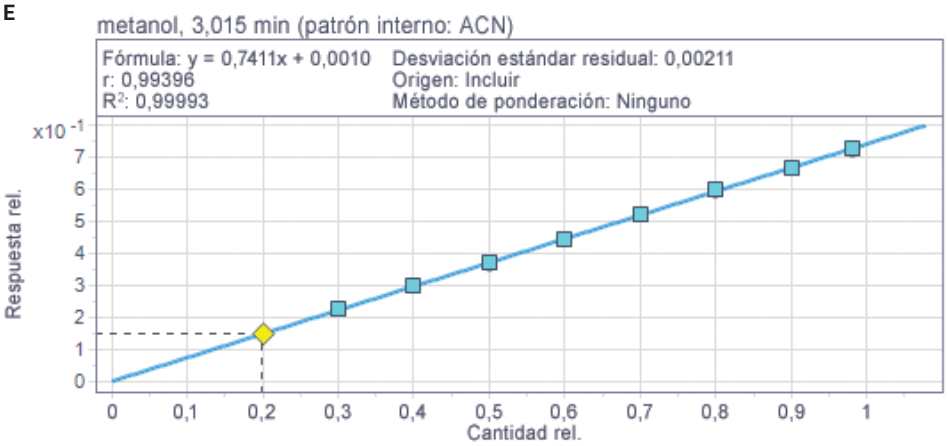


Figura 2D, E. Curvas de calibración de glicerina (D) y metanol (E), con coeficientes de correlación. superiores a 0,995.

Tabla 3. Demostración de la idoneidad del sistema para el análisis de alcoholes.

Compuesto	TR medio (min)	% RSD del TR	Precisión de la cuantificación (%)	Coeficiente de correlación de la calibración	Rango de calibración (v/v)	Factor de cola de pico	Resolución respecto al PI
Metanol	3,015	0,025	0,3	0,9999	1 a 4,9 %	1,2	>15
Isopropanol	3,488	0,028	0,41	0,9999	1 a 4 %	1,1	>15
Etanol	3,618	0,026	0,16	0,9999	1 a 4 %	1,0	15
n-propanol	5,858	0,008	0,29	0,9999	0,1 a 1,5 %	1,1	9
Glicerina	12,917	0,006	1,67	0,9970	0,0092 a 0,184 %	1,0	>9

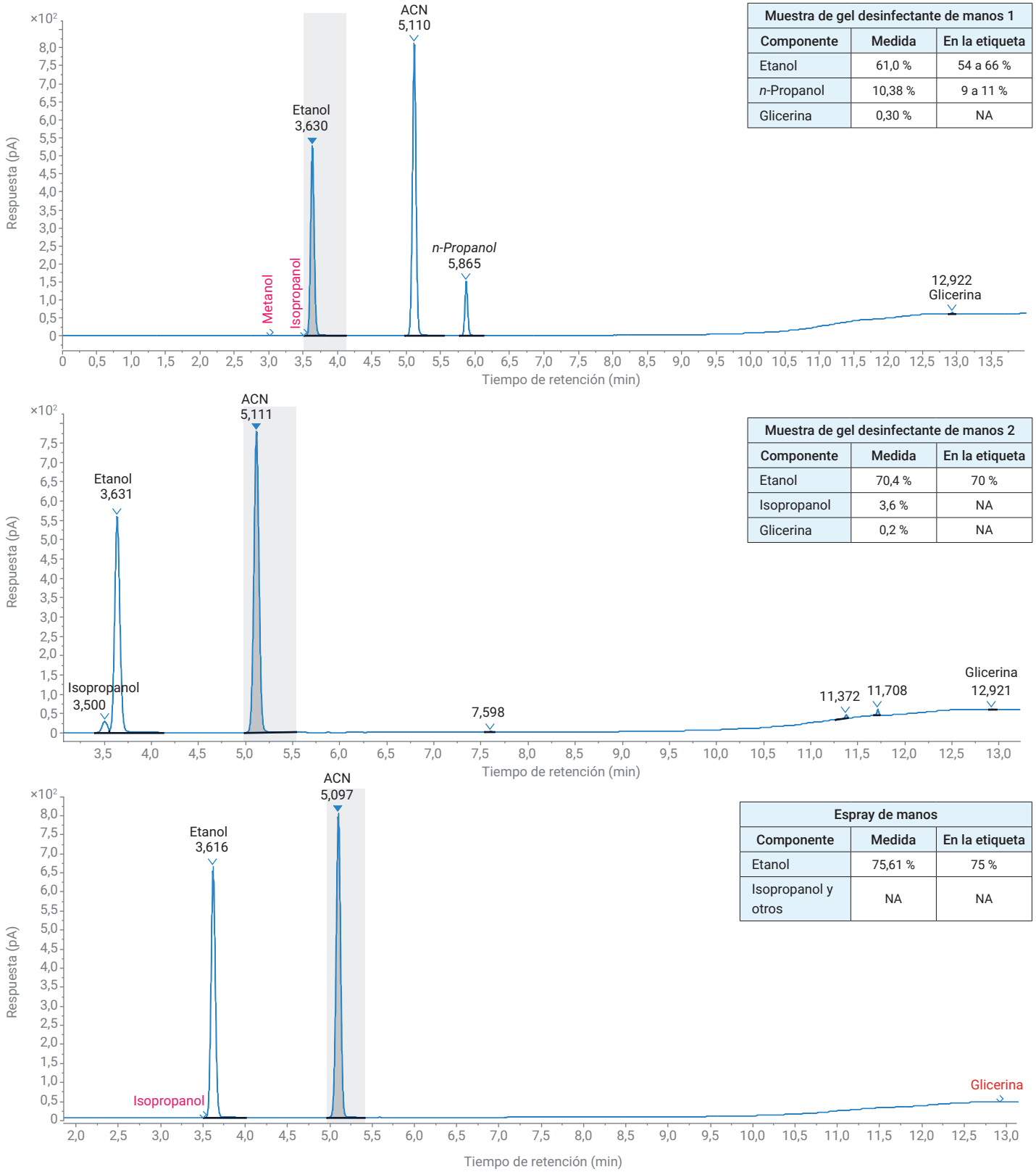


Figura 3. Cromatogramas de los geles desinfectantes de manos y del espray desinfectante y sus resultados de identificación.

La muestra de gel 2 se identificó con un 70,4 % (v/v) de etanol, un 3,6 % (v/v) de isopropanol y un 0,2 % (v/v) de glicerina. En la etiqueta aparecía una concentración de etanol del 70 % (v/v), otra buena coincidencia con los resultados de la prueba. Para la muestra de gel 2, el isopropanol y el etanol no se separaron en el nivel de la línea base, pero la cuantificación de etanol fue precisa a pesar de ello. La concentración de etanol en el espray alcohólico está indicada en la etiqueta como del 75 % (v/v); se determinó que era del 75,6 %. No se detectó glicerina en el espray alcohólico. En la muestra de gel 2 se detectaron otros picos, que eluyeron a 7,6, 11,4 y 11,7 minutos. Es probable que estos componentes fueron añadidos al desinfectante por los fabricantes como ingredientes antimicrobianos, humectantes, etc. Su concentración se calculó en menos del 1 % (v/v) utilizando el factor relativo de respuesta de la glicerina. No se detectó metanol en ninguna de las tres muestras de desinfectante de manos.

Con el fin de probar la estabilidad del sistema, se realizó una secuencia larga. Se analizó un total de 40 inyecciones de muestras de gel desinfectante de manos y cinco muestras de control de calidad. La secuencia comenzó con una muestra de control de calidad y siguió con cinco inyecciones de la muestra de gel desinfectante 1 y de cinco inyecciones de muestra de gel 2. A continuación, se realizaron otras tres rondas de una inyección de muestra de control de calidad y de 10 inyecciones de muestras reales, finalizando con una quinta inyección de muestra de control de calidad. La concentración nominal de etanol e isopropanol en las muestras de control de calidad fue del 50,0 % (v/v). Los cromatogramas superpuestos de las cinco muestras de control de calidad se muestran en la Figura 4. Los tiempos de retención y los resultados de cuantificación para las cinco muestras de control de calidad se indican en la Tabla 4. La concentración medida media para etanol e isopropanol fue del 50,2 % (v/v) y del 51,2 % (v/v), respectivamente. La precisión de la cuantificación de las muestras de control de calidad fue del 101 % y del 102 %. La precisión de la cuantificación para el isopropanol y el etanol fue del 0,715 % y del 1,11 %. La reproducibilidad de los tiempos de retención fue del 0,03 % y del 0,04 %.

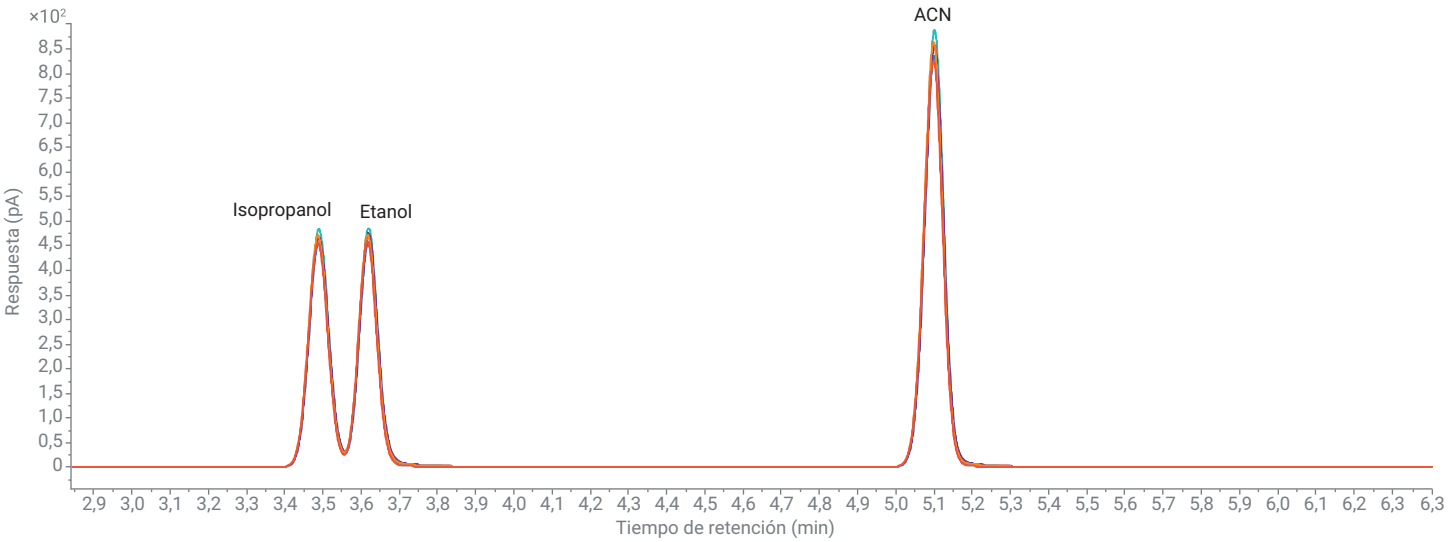


Figura 4. Cromatogramas superpuestos de las cinco muestras de control de calidad.

Tabla 4. Cuantificación y precisión de los tiempos de retención de cinco muestras de control de calidad durante 40 análisis de muestras reales.

Cuantificación (% vol.)	CC1	CC2	CC3	CC4	CC5	% RSD cuant.
Isopropanol	50,363	50,038	49,958	50,045	50,821	0,71 %
Etanol	50,544	51,061	52,067	51,473	51,051	1,11 %
Tiempo de retención (min)	**CC1**	**CC2**	**CC3**	**CC4**	**CC5**	**% RSD del TR**
Isopropanol	3,487	3,488	3,488	3,486	3,486	0,03 %
Etanol	3,617	3,618	3,618	3,616	3,615	0,04 %

El resumen de los resultados para 20 inyecciones de las muestras de gel 1 y 2 se tabula en la Tabla 5. La concentración medida para las 40 inyecciones de muestras reales de desinfectante de manos coincidió bien con el rango de concentración indicado en la etiqueta. La precisión de la cuantificación para etanol y *n*-propanol en la muestra 1 fue del 0,45 % y del 0,38 %, respectivamente, mientras que la precisión de la cuantificación para isopropanol y etanol en la muestra 2 fue del 0,55 % y del 0,31 %. La reproducibilidad del tiempo de retención para etanol, isopropanol y *n*-propanol durante las 20 inyecciones estuvo en un rango de entre el 0,02 y el 0,04 %, comparable al % RSD del TR de entre el 0,01 y el 0,03 % generado en siete inyecciones consecutivas, como se muestra en la Tabla 3. La exactitud y precisión de la cuantificación de las muestras de control de calidad y reales demostraron que el sistema GC/FID 8860, acoplado con la columna DB-WAX Ultra Inert, puede proporcionar un análisis de alcohol fiable y preciso.

Tabla 5. Resumen de resultados de muestras de gel desinfectante durante la prueba de estabilidad.

Gel 1					Gel 2				
N.º inyección	TR (min)	Cuant. (% vol.)	TR (min)	Cuant. (% vol.)	N.º inyección	TR (min)	Cuant. (% vol.)	TR (min)	Cuant. (% vol.)
	Etanol		*n*-Propanol			Isopropanol		Etanol	
2	3,618	61,59	5,858	10,48	7	3,49	3,63	3,62	69,93
3	3,62	61,55	5,856	10,48	8	3,491	3,63	3,621	70,39
4	3,618	61,54	5,858	10,49	9	3,49	3,65	3,619	70,38
5	3,618	61,02	5,857	10,41	10	3,491	3,65	3,623	70,45
6	3,619	61,56	5,856	10,48	11	3,493	3,63	3,623	70,40
13	3,62	61,59	5,856	10,48	18	3,49	3,65	3,621	70,02
14	3,618	61,57	5,856	10,48	19	3,492	3,61	3,622	70,29
15	3,62	61,85	5,858	10,53	20	3,492	3,62	3,623	70,39
16	3,619	61,73	5,857	10,51	21	3,492	3,65	3,622	70,56
17	3,618	61,75	5,856	10,52	22	3,492	3,63	3,622	70,30
24	3,619	61,42	5,856	10,47	29	3,491	3,65	3,622	70,40
25	3,617	61,76	5,855	10,51	30	3,49	3,61	3,621	70,34
26	3,619	61,74	5,857	10,51	31	3,49	3,62	3,62	70,41
27	3,619	61,89	5,856	10,53	32	3,49	3,63	3,62	70,36
28	3,619	61,80	5,856	10,53	33	3,491	3,66	3,622	70,60
35	3,618	61,93	5,856	10,55	40	3,489	3,64	3,619	70,97
36	3,617	62,02	5,855	10,55	41	3,49	3,64	3,62	70,49
37	3,618	62,28	5,857	10,60	42	3,49	3,64	3,62	70,58
38	3,619	62,09	5,857	10,55	43	3,487	3,70	3,617	70,52
39	3,617	62,07	5,856	10,55	44	3,488	3,61	3,619	70,71
Media	3,62	61,74	5,86	10,51		3,49	3,64	3,62	70,42
% RSD	0,03 %	0,45 %	0,02 %	0,38 %		0,04 %	0,55 %	0,04 %	0,31 %

Conclusión

En este trabajo se utilizó el sistema GC 8860 junto con un detector FID y una columna DB-WAX Ultra Inert para el análisis de alcoholes en desinfectantes de manos. La ruta inerte de flujo de gas, a la que contribuyeron el liner Ultra Inert y la columna Ultra Inert, ayudó a generar un pico nítido y simétrico para los alcoholes analizados, con factores de cola de pico inferiores a 1,2. La resolución de alcohol con respecto al patrón interno superó el requisito del método USP <611>. La precisión de la cuantificación media en los alcoholes volátiles fue inferior al 1 %. El rendimiento de la calibración para los cinco alcoholes fue excelente, con coeficientes de correlación de linealidad superiores a 0,995. El análisis en los geles desinfectantes de manos y en el espray desinfectante reales proporcionaron unos resultados de cuantificación precisos. El rendimiento del sistema demostró de qué modo el sistema GC/FID 8860 con la columna Ultra Inert resulta útil para el análisis de alcoholes en desinfectantes de manos.

Referencias

1. USP <611> Alcohol Determination, Monograph US Pharmacopeia, **2020**.
2. ASTM D3695-95(2013), Standard Test Method for Volatile Alcohols in Water by Direct Aqueous-Injection Gas Chromatography, ASTM International, West Conshohocken, PA, **2013**.
3. Abercrombie, V. *et al.* Analysis of Ethanol and Isopropyl Alcohol in Alcohol-Based Hand Sanitizers by Direct Injection GC/FID, *nota de aplicación de Agilent Technologies*, número de publicación 5994-1923EN.

www.agilent.com/chem

DE.5224768519

Esta información está sujeta a cambios sin previo aviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2020

Impreso en EE. UU., 29 de junio de 2020
5994-2089ES

Agilent
Trusted Answers