Nota de aplicação

Análise de desinfetantes para as mãos usando o GC Agilent 8860 configurado com um detector de ionização de chama

Autor

Jie Zhang
Agilent Technologies, Inc.

Resumo

Esta nota de aplicação descreve a análise de desinfetantes para as mãos à base de etanol e isopropanol. A coluna Agilent J&W DB-WAX foi usada para otimizar a resolução cromatográfica e o formato do pico. A detecção de ionização de chama (FID) foi usada para a detecção. O padrão de calibração (IS) interno foi usado para a quantificação com base na recomendação do método (USP) <611> da Farmacopeia dos EUA. A adequação do instrumento foi investigada em termos de fator de cauda de pico, resolução do álcool quanto ao padrão interno e a repetibilidade da quantificação.

Introdução

O etanol e o álcool isopropílico (IPA) são os principais componentes ativos presentes nos desinfetantes para as mãos. Para manter a eficiência, a concentração de etanol ou álcool isopropílico (IPA) deve permanecer em uma faixa apropriada, geralmente 65 a 75%, conforme rotulado no recipiente do desinfetante. Como outros alcoóis também podem estar presentes em produtos desinfetantes como impurezas ou adições inadequadas como meio de fazer produtos adulterados, é importante medir os alcoóis corretos nos níveis de concentração adequados. A cromatografia gasosa (GC) é uma das técnicas recomendadas pela USP para determinar a concentração de alcoóis. A GC também pode fornecer informações sobre o tempo de retenção para verificar a identidade do álcool, garantindo que o desinfetante para as mãos não tenha sido contaminado. Com a capacidade de análise qualitativa e quantitativa, a cromatografia gasosa continuará a desempenhar um papel fundamental no controle de qualidade dos desinfetantes para as mãos.

Os métodos para determinação de álcool, como USP <611>[1] e ASTM D3695[2], recomendam uma coluna polar ou polar intermediária para obter uma boa separação e resposta dos componentes do álcool. Com base em nosso trabalho anterior[3], as colunas J&W DB-Wax Agilent ou DB-624 Ultra Inert Agilent podem fornecer formatos de pico mais finos e simétricos para alcoóis. Recomenda-se o uso de um FID para a detecção de álcool porque é fácil de usar e pode gerar uma resposta estável e adequada dentro da faixa de concentração testada após os alcoóis serem diluídos durante o processo de preparo da amostra. Neste trabalho, foi usada uma coluna DB-WAX Ultra Inert em um GC Agilent 8860 com FID para a análise de álcool. O desempenho do sistema foi avaliado quanto à repetibilidade do tempo de retenção, resolução de pico, fator de cauda de pico e precisão da quantificação. Isso foi feito para demonstrar a adequação do sistema de GC/FID 8860 em conjunto com uma coluna Agilent Ultra Inert para a análise de álcool em desinfetante de mãos.

Parte experimental

O GC Agilent 8860 foi equipado com um injetor split/splitless e um FID. A injeção de amostra líquida foi feita usando um amostrador automático de líquidos (ALS) Agilent 7693A com uma seringa de 5 µL. Os parâmetros analíticos são mostrados na Tabela 1.

Produtos químicos e padrões

Os solventes de álcool e acetonitrila (IS) foram adquiridos da ANPEL Scientific Instrument (Xangai). A solução de trabalho de glicerina foi preparada pesando 58,4 mg de glicerina (aproximadamente 50 µL) e diluindo-a em água destilada para 1 mL. A concentração de volume calculada para a solução de trabalho de glicerina foi de 4,6% (v/v). Os padrões de calibração de álcool foram preparados pela adição de alíquotas de alcoóis puros ou de sua solução de trabalho em água destilada com volume final de 1 mL. Etanol, IPA e glicerina estão nas soluções de calibração do grupo 1. A faixa de calibração para etanol e IPA é de 1 a 4% (v/v). A concentração para glicerina é de 0,01 a 0,18% (v/v). O metanol e *o n*-propanol (n-PA) foram preparados em soluções de calibração no grupo 2. A faixa de calibração para metanol foi de 1 a 4% (v/v), e 0,1 a 1,5% (v/v) para *n*-propanol. O padrão interno (IS) de acetonitrila (ACN) foi adicionado às soluções de calibração a uma concentração de 5% (v/v). As soluções de calibração foram preparadas conforme descrito na Tabela 2. A amostra de CQ foi preparada diluindo 25 µL de etanol, 25 µL de IPA e 50 µL de acetonitrila para 1 mL em água destilada.

A amostra de gel desinfetante para as mãos era muito viscosa para a injeção direta de líquido e teve que ser diluída antes da injeção pelo amostrador automático de líquidos 7693A. Esta é a razão pela qual as amostras reais e padrões de calibração são preparados com diluição de solvente. A amostra do desinfetante para as mãos de 50 µL foi dispensada em um frasco usando uma seringa hermética de 1 mL. Em seguida, 50 µL de acetonitrila foram adicionados como IS, e a amostra foi diluída para 1 mL com água destilada para análise posterior.

Tabela 1. Parâmetros analíticos de um GC-FID Agilent 8860 em padrões de álcool.

Parâmetros do GC Agilent 8860	
Injetor split/splitless	250°C, razão de split 20:1
Volume de injeção	0,2 µL
Gás de arraste	He
Vazão da coluna	7 mL/min, modo de fluxo constante
Forno	50°C (5 min), 30°C/min até 230°C (3 min)
FID	250°C, ar: 400 mL/min, gás combustível (H_2): 30 mL/min, makeup constante (N_2): 18 mL/min
Coluna	Agilent J&W DB-WAX UI, 30 m, 530 µm, 1 µm (p/n 125-7032UI)
Liner do injetor	Agilent Ultra Inert, split, queda de pressão baixa com lã de vidro (p/n 5190 -2295)

Resultados e discussão

Esta nota de aplicação se concentrou na análise dos principais componentes do álcool e na possível contaminação por metanol no desinfetante para as mãos. Cinco tipos de alcoóis foram incluídos no padrão de calibração. Eram metanol, etanol, IPA, *n*-propanol e glicerina. Entre estes, as concentrações de etanol, IPA e *n*-propanol são geralmente rotuladas, pois estão estritamente relacionadas com a eficácia da eliminação de vírus. A glicerina e outros tipos de alcoóis podem ser detectados em amostras reais, mas não há uma concentração específica rotulada pelos fabricantes para esses alcoóis. A inclusão da glicerina no padrão de calibração visa mostrar como o sistema descrito pode gerar um bom pico e fornecer uma detecção adequada de alcoóis de eluição tardia e viscosos, como a glicerina.

A separação de cinco alcoóis e um padrão interno em solução aquosa, com uma concentração de componentes variando de 1,0 a 4% (v/v), foi realizada usando uma coluna Ultra Inert DB-WAX. Esta amostra era uma mistura do padrão de calibração de nível médio do grupo 1 e grupo 2 com o padrão de trabalho de glicerina. Conforme mostrado no cromatograma (Figura 1) e na Tabela 3, os fatores de cauda de todos os picos foram inferiores a 1,2. O metanol e o IPA eluíram antes do etanol. A resolução do *n*-propanol para acetonitrila (IS) foi 9, e a resolução do etanol para acetonitrila foi 12. O padrão USP <611> requer fatores de cauda de pico de álcool menores que 2,0 e resoluções de pico quanto ao padrão interno de mais de 4,0. A resolução e o formato do pico alcançados no GC 8860, com a trajetória de fluxo começando no injetor split/splitless, passando pela coluna analítica e terminando no FID, provaram que o sistema é adequado para a análise de alcoóis de interesse.

A resolução do etanol e IPA foi de 1,31. Não é uma separação na linha de base, mas geralmente não afeta a quantificação exata do etanol ou IPA, considerando que eles não coexistem no mesmo desinfetante para as mãos na maioria dos casos. Mesmo se eles coexistissem, uma resolução de

Tabela 2. Preparo dos padrões de calibração de álcool.

Nº de nível	Padrões de calibração do grupo um			Padrões de calibração do grupo dois	
	Etanol (µL)	IPA (µL)	Solução de trabalho 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%)	

O volume final da solução de calibração em diferentes níveis é de 1 mL. As concentrações de álcool em diferentes níveis são mostradas como os valores entre parênteses.

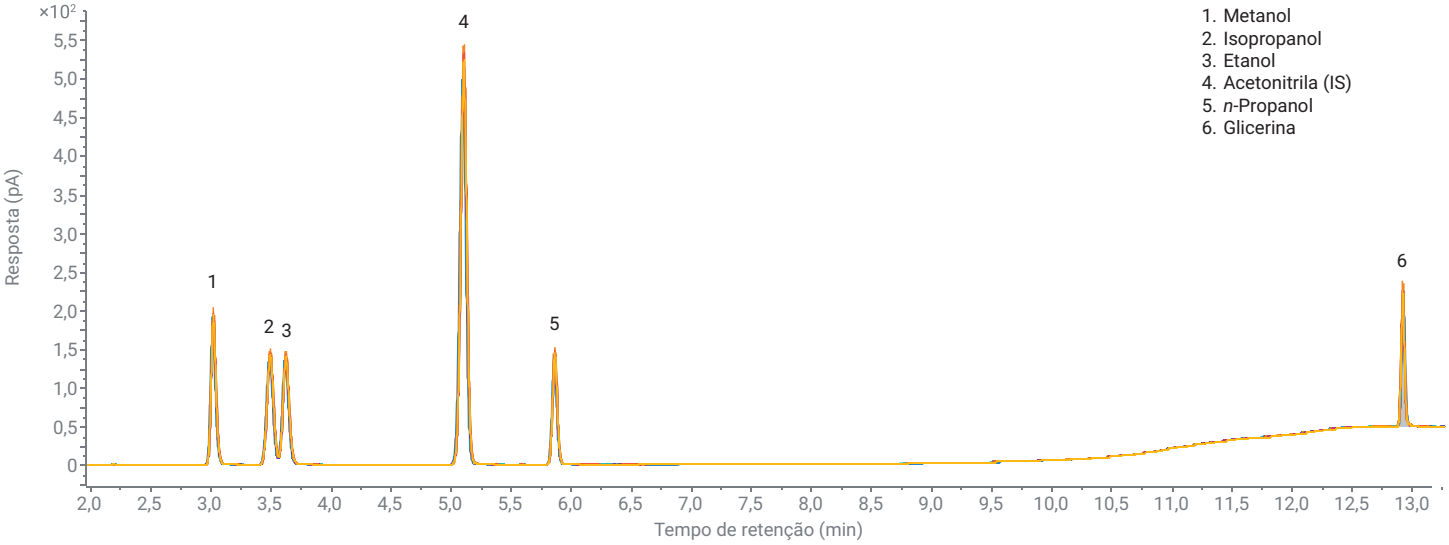


Figura 1. Sobreposição de cromatogramas dos padrões de álcool analisados em um GC-FID Agilent 8860 instalado com uma coluna Agilent DB-WAX Ultra Inert.

1,31 é suficiente para fornecer uma quantificação exata do álcool principal, o que pode ser mostrado no resultado da próxima análise de uma amostra de gel desinfetante para as mãos.

As curvas de calibração do álcool foram desenvolvidas usando um método de calibração com padrão interno. Conforme mostrado na Figura 2 e na Tabela 3, os coeficientes de correlação (R^2) para os alcoóis nas devidas faixas de calibração são de 0,997 a 0,999.

A precisão da quantificação foi avaliada por sete injeções da mistura de álcool, com cada álcool variando de 1 a 2% (v/v). Os cromatogramas sobrepostos são mostrados na Figura 1. As precisões de quantificação foram avaliadas com base no desvio padrão relativo (RSD) da razão de resposta dos alcoóis em relação à acetonitrila durante as sete injeções. A maior parte da precisão de quantificação foi maior que 1%, exceto para a glicerina, com um % de RSD de 1,7%. O padrão USP <611> requer um RSD menor que 4,0% na razão entre o pico do álcool e o pico do padrão interno. O desempenho de precisão na plataforma testada excedeu o requisito USP <611>.

Foi realizada a análise de álcool em duas amostras de gel desinfetante para as mãos e uma de spray desinfetante de diferentes fornecedores. Os cromatogramas dos três produtos são mostrados na Figura 3. Os resultados do teste dos alcoóis principais em cada amostra são apresentados na tabela de inserção. Para a amostra de gel desinfetante 1, são identificados etanol, *n*-propanol e glicerina. As concentrações testadas de etanol, *n*-propanol e glicerina são 61,0% (v/v), 10,4% (v/v) e 0,3% (v/v). A concentração de etanol e *n*-propanol rotulada pelo fabricante era de 54 a 66% (v/v) e 9 a 11% (v/v). A concentração medida e a rotulada para a amostra de gel 1 mostraram uma ótima correspondência entre si.

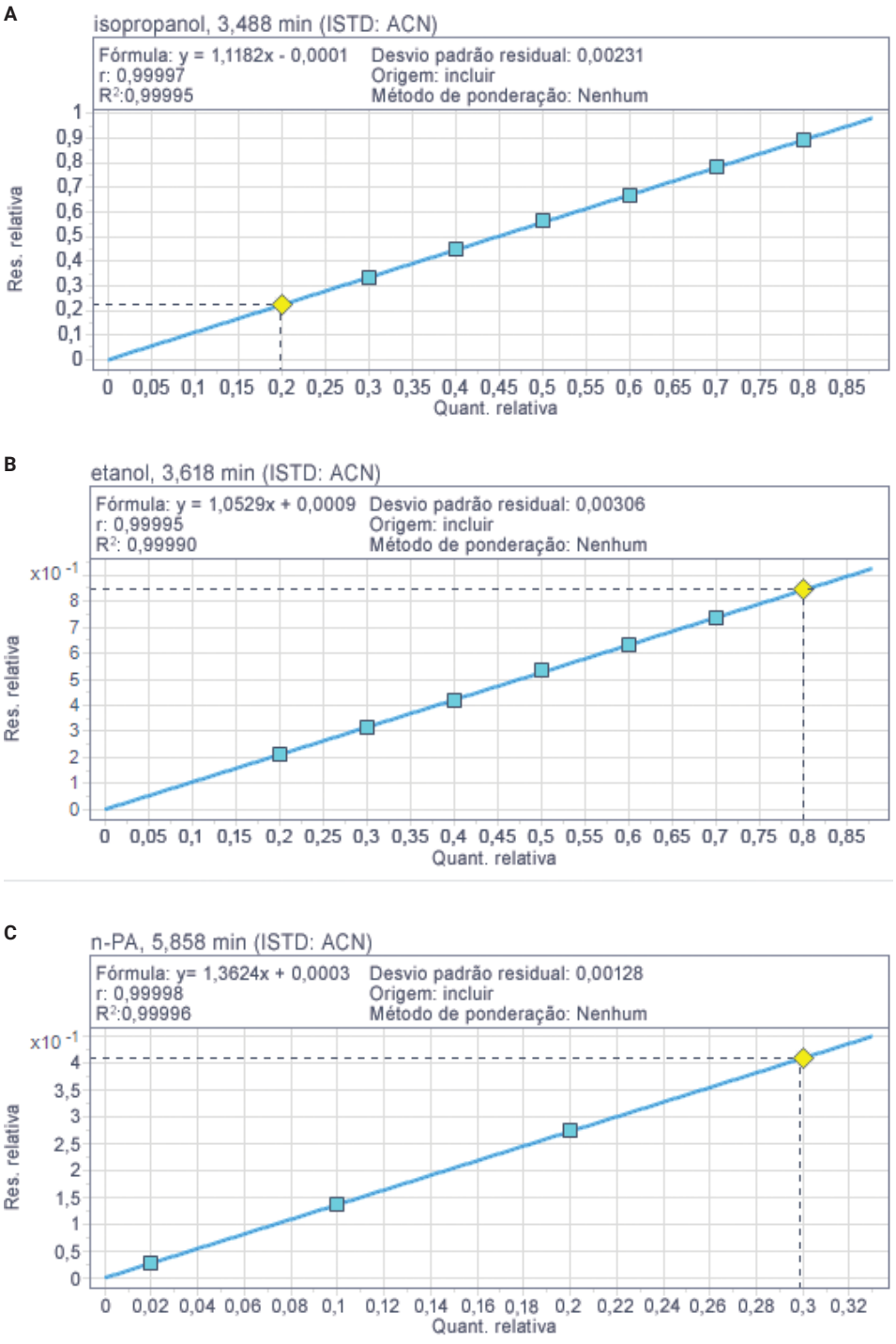
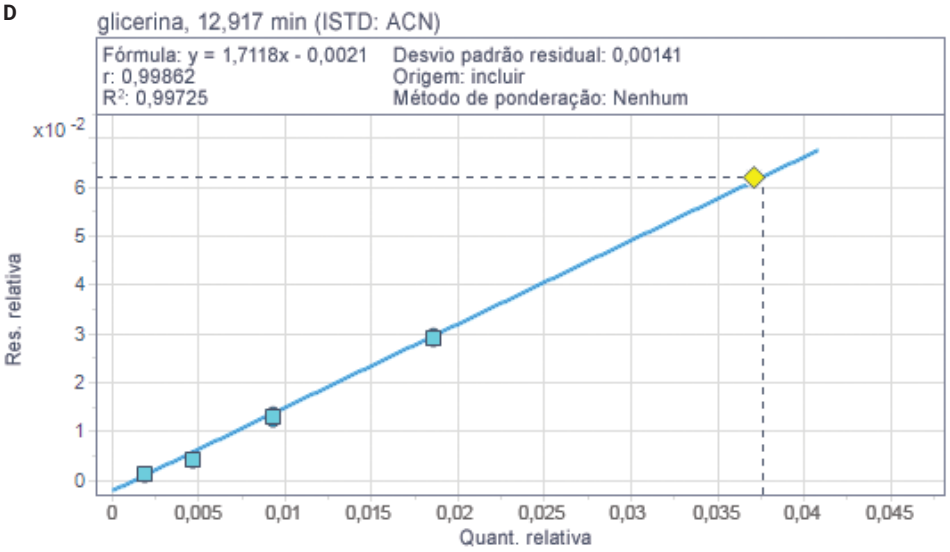


Figura 2A, B, C. Curvas de calibração de IPA (A), etanol (B) e *n*-propanol (C), com coeficientes de correlação superiores a 0,999.

D



E

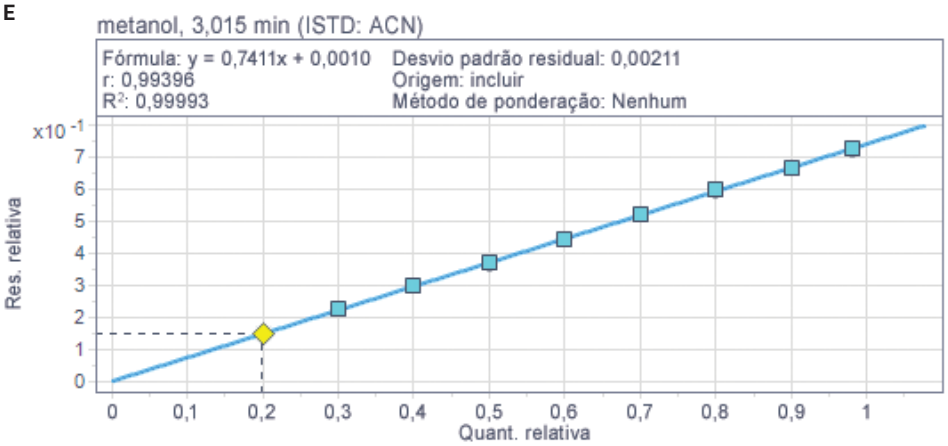


Figura 2D, E. Curvas de calibração de glicerina (D) e metanol (E), com coeficientes de correlação superiores a 0,995.

Tabela 3. Demonstração da adequação do sistema para a análise de álcool.

Composto	TR médio (min)	% de RSD do TR	Precisão de quantificação (%)	Coeficiente de correlação de calibração	Faixa de calibração (v/v)	Fator de cauda de pico	Resolução com IS
Metanol	3,015	0,025	0,3	0,9999	1 a 4,9%	1,2	>15
IPA	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

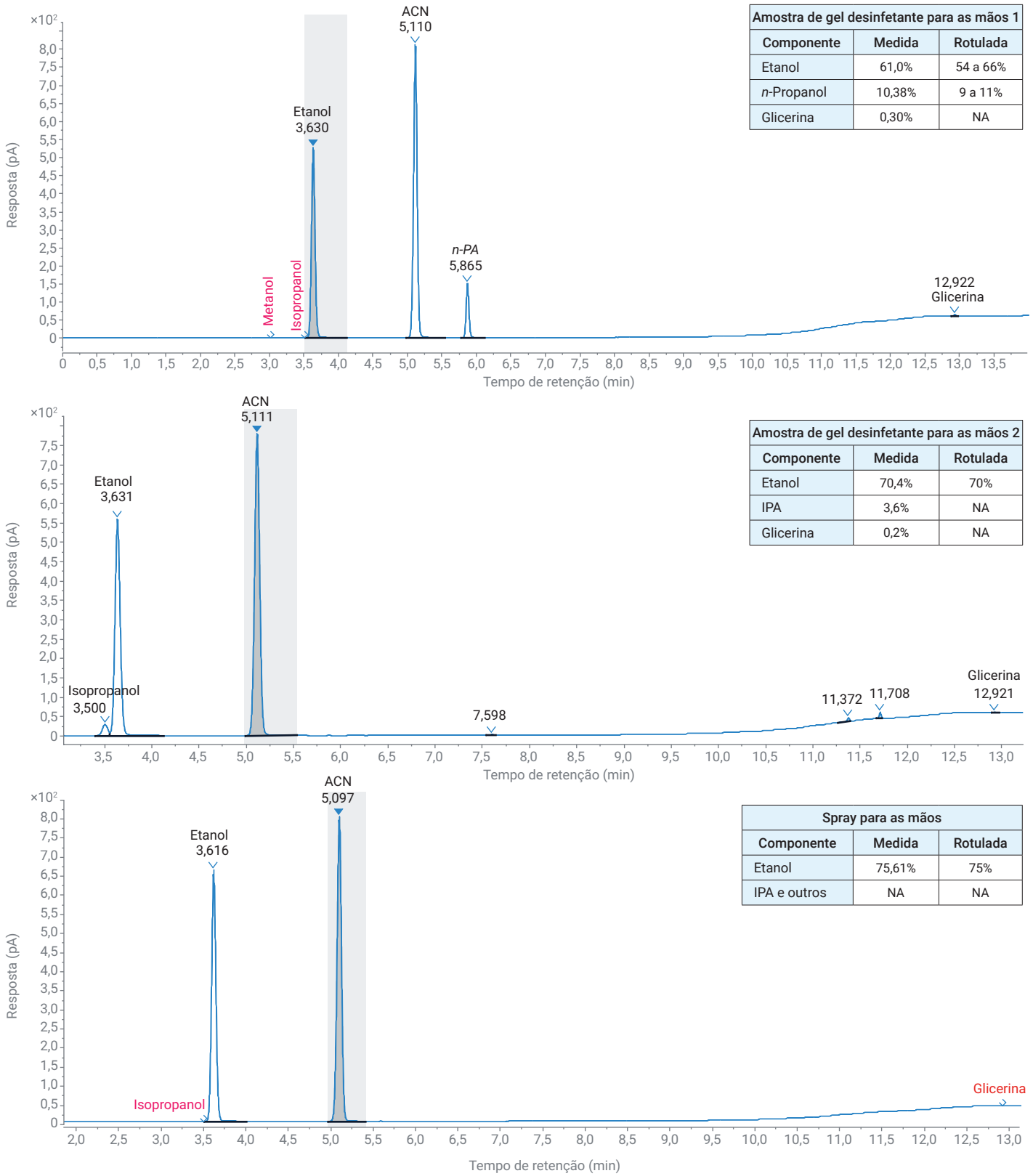


Figura 3. Cromatogramas de géis e spray desinfetantes para as mãos e seus resultados de identificação.

A amostra de gel 2 foi identificada com 70,4% (v/v) de etanol, 3,6% (v/v) de IPA e 0,2% (v/v) de glicerina. O produto foi rotulado com uma concentração de etanol de 70% (v/v), o que é outra boa correspondência com os resultados do teste. Para a amostra de gel 2, o IPA e o etanol não se separaram no nível da linha de base, mas a quantificação de etanol ainda é precisa. A concentração de etanol em spray de álcool é rotulada a 75% (v/v) e determinada a 75,6%. Não foi detectada glicerina no spray de álcool. Existem outros picos detectados na amostra de gel desinfetante 2, que eluiu em 7,6, 11,4 e 11,7 minutos. É provável que esses componentes sejam adicionados pelos fabricantes ao desinfetante como ingrediente antimicrobiano ou umectante etc. Sua concentração foi estimada em menos de 1% (v/v) usando o fator de resposta relativo da glicerina. Não foi detectado metanol nas três amostras de desinfetante para as mãos.

Foi corrida uma longa sequência para testar a estabilidade do sistema. Foi corrido um total de 40 injeções de amostras de gel desinfetante para as mãos e cinco amostras de CQ. A sequência começou com uma amostra de CQ, seguida por cinco injeções da amostra de gel desinfetante 1 e cinco injeções da amostra de gel 2. Seguiram-se mais três rodadas de uma injeção de amostra de CQ e 10 injeções de amostras reais, terminando com uma quinta injeção de amostra de CQ. A concentração nominal de etanol e IPA na amostra de CQ foi de 50,0% (v/v). Os cromatogramas sobrepostos de cinco amostras de CQ são mostrados na Figura 4. Os resultados de TR e quantificação para as cinco amostras de QC estão listados na Tabela 4. A concentração média medida para o etanol e IPA foi de 50,2% (v/v) e 51,2% (v/v). A exatidão da quantificação das amostras de CQ foi de 101% e 102%. A precisão de quantificação para o IPA e o etanol foi de 0,715% e 1,11%. As repetições de TR foram de 0,03% e 0,04%.

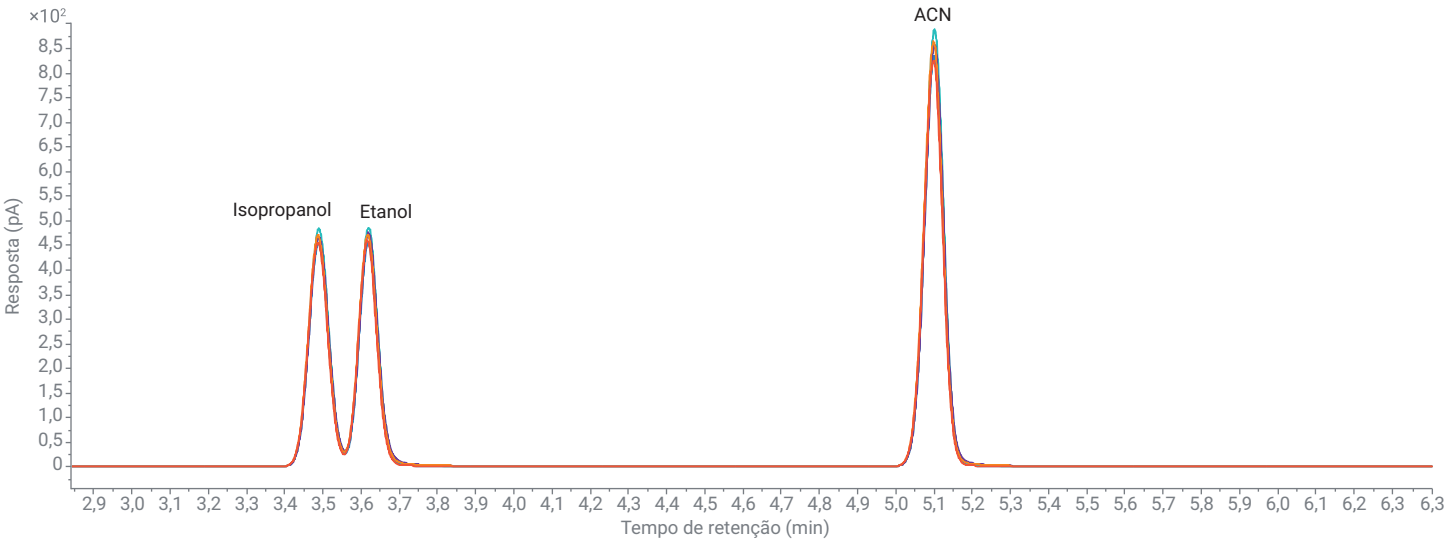


Figura 4. Cromatogramas sobrepostos de cinco amostras de CQ.

Tabela 4. Quantificação e precisão de TR de cinco amostras de CQ durante 40 corridas de análise de amostras reais.

Quantificação (Vol%)	CQ1	CQ2	CQ3	CQ4	CQ5	Quant. % de RSD
IPA	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%
Tempo de retenção (min)	**CQ1**	**CQ2**	**CQ3**	**CQ4**	**CQ5**	**% de RSD do TR**
IPA	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%

O resumo dos resultados para as 20 injeções das amostras de gel 1 e 2 é mostrado na Tabela 5. A concentração medida para as 40 injeções de amostras reais de desinfetante para as mãos correspondeu bem com a faixa de concentração rotulada. A precisão da quantificação para o etanol e o *n*-propanol na amostra 1 foi de 0,45% e 0,38%, respectivamente, e a precisão da quantificação para o IPA e o etanol na amostra 2 foi de 0,55% e 0,31%. A repetibilidade do TR para o etanol, IPA e *n*-propanol durante 20 injeções variou de 0,02 a 0,04%, comparável ao % de RSD do TR de 0,01 a 0,03% gerado em sete injeções consecutivas mostradas na Tabela 3. A exatidão e a precisão da quantificação do CQ e das amostras reais demonstraram que o sistema GC-FID 8860, juntamente com a coluna Ultra Inert DB-WAX, pode fornecer análises de álcool confiáveis e exatas.

Tabela 5. Resumo dos resultados das amostras de gel desinfetante durante o teste de estabilidade.

Gel 1					Gel 2				
Nº de injeção	TR (min)	Quant. (Vol%)	TR (min)	Quant. (Vol%)	Nº de injeção	TR (min)	Quant. (Vol%)	TR (min)	Quant. (Vol%)
	Etanol		*n*-Propanol			IPA		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
Média	3,62	61,74	5,86	10,51		3,49	3,64	3,62	70,42
% de RSD	0,03%	0,45%	0,02%	0,38%		0,04%	0,55%	0,04%	0,31%

Conclusão

Este trabalho usou o sistema de GC 8860 em conjunto com um FID e uma coluna Ultra Inert DB-WAX para a análise de álcool em desinfetantes para as mãos. A trajetória do fluxo de gás inerte contribuído pelo liner Ultra Inert e a coluna Ultra Inert ajudou a gerar um pico fino e simétrico para os alcoóis de interesse, com fatores de cauda de pico inferiores a 1,2. A resolução do álcool quanto ao padrão interno excedeu o requisito do método USP <611>. A precisão média de quantificação para os alcoóis voláteis é inferior a 1%. O desempenho da calibração para todos os cinco alcoóis é excelente, com coeficientes de correlação de linearidade melhores que 0,995. A análise do gel e spray desinfetante para as mãos entregou resultados de quantificação exatos. O desempenho do sistema demonstrou como o GC/FID 8860 com o sistema de coluna Ultra Inert é útil para a análise de álcool em desinfetantes para as mãos.

Referências

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 aplicação Agilent Technologies*, número de publicação 5994-1923EN.

www.agilent.com/chem

DE.5224768519

Estas informações estão sujeitas a alterações sem aviso prévio.

© Agilent Technologies, Inc. 2020

Impresso nos EUA, 29 de junho de 2020
5994-2089PTBR

Agilent
Trusted Answers