

Medições rápidas, fáceis e confiáveis de amostras de líquidos usando FTIR de transmissão

Comparação entre o módulo DialPath e uma cela de líquidos tradicional para a quantificação de simeticona usando o FTIR Agilent Cary 630

Autores

Fabian Zieschang
Wesam Alwan
Agilent Technologies, Inc.



Introdução

A espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) é uma técnica comumente utilizada na indústria farmacêutica, onde desempenha um papel importante no controle de qualidade de produtos farmacêuticos finais. No entanto, obter medições exatas e precisas de amostras farmacêuticas líquidas pode ser difícil por FTIR de transmissão com uso de celas de fluxo ou desmontáveis. Existem vários desafios que fazem com que o uso dessas celas seja complicado, sujeito a erros e demorado para a análise de líquidos:

- As celas são frágeis, e a montagem dos espaçadores e janelas pode ser difícil.
- O design das celas dificulta o alcance de um caminho óptico reproduzível.
- As celas tendem a vazar.
- Bolhas de ar podem interferir na análise.
- A limpeza e montagem das celas são tarefas demoradas.
- Amostras pegajosas e viscosas são difíceis de medir.
- São necessárias quantidades significativas de volume da amostra e solvente de lavagem.

O módulo de amostragem Agilent DialPath exclusivo do espectrômetro FTIR Agilent Cary 630 elimina a necessidade de celas de fluxo tradicionais ou desmontáveis para líquidos, simplificando a análise de amostras líquidas. Uma pequena gota de amostra de líquido é colocada entre as duas janelas em posição horizontal do módulo DialPath, conforme mostrado na Figura 1 (meio) e Figura 2. A distância entre as duas janelas define o caminho óptico.



Figura 1. Três etapas simples permitem a análise de amostras de líquidos usando um espectrômetro FTIR Agilent Cary 630 equipado com o módulo DialPath.

O módulo DialPath fornece seleção instantânea de três caminhos ópticos predefinidos que podem ser selecionados girando o cabeçote do módulo. O módulo Agilent TumbllR usa a mesma tecnologia do módulo DialPath, mas está disponível com apenas um caminho óptico ao invés de três. Ambos os módulos são alinhados de forma permanente e são facilmente acoplados na parte frontal do módulo principal do FTIR Cary 630. O software Agilent MicroLab detecta automaticamente qual módulo está instalado no módulo principal do FTIR Cary 630 e aplica as configurações corretas, permitindo que até mesmo usuários inexperientes possam fazer a troca dos módulos em segundos.

Neste estudo, um módulo principal do FTIR Cary 630 equipado com o módulo DialPath foi usado para a quantificação de simeticona em um medicamento antiácido disponível comercialmente. Para fins de comparação, os dados também foram adquiridos usando a abordagem tradicional do FTIR com cела desmontável em um compartimento de amostra de transmissão. A quantificação de simeticona é descrita na monografia da USP-NF, USP43-NF38, página 4044 (1). De acordo com a monografia, a quantidade de simeticona na formulação de um medicamento é determinada como a concentração percentual da amostra em comparação a uma solução padrão de simeticona de 2 mg/mL (2 mg/mL é igual a concentração percentual de 100%).

Parte experimental

Preparo das soluções de branco, padrão e de controle de amostra

A USP43-NF38 descreve a quantificação de simeticona como uma concentração percentual em relação a um padrão de simeticona conhecido. Uma solução padrão de simeticona contendo 2 mg/mL (100%) de simeticona foi preparada usando um padrão de referência de simeticona USP. Cerca de 25 mg de simeticona da USP (CAS 8050-81-5) foram precisamente pesados e transferidos para um tubo de centrífuga de vidro de 50 mL com tampa rosqueável. 12,5 mL de tolueno de grau espectroscópico foram adicionados ao tubo, seguidos de 25 mL de HCl 4,8 M. O tubo foi agitado manualmente durante 5 minutos seguido de 5 minutos de agitação em um misturador vórtex. Em seguida, o tubo foi centrifugado a 1500 rpm por 30 minutos. Cerca de 5 mL da camada orgânica superior foram transferidos para um tubo de centrífuga de 50 mL com tampa rosqueável contendo cerca de 1 g de sulfato de sódio anidro para remover qualquer água residual presente na camada orgânica. O tubo foi agitado vigorosamente de forma manual por 1 minuto e centrifugado por 10 minutos até que uma camada transparente fosse obtida. Um branco foi preparado seguindo o mesmo procedimento, mas sem adicionar a simeticona da USP. Para testar o método usando amostras acima, abaixo e dentro da faixa, três amostras de controle contendo concentrações percentuais de 81,2, 114,0 e 100,7% de simeticona também foram preparadas.

Preparação de cápsulas contendo simeticona

Um tipo de cápsula de simeticona disponível comercialmente foi adquirido em uma farmácia local. O rótulo indicava que cada cápsula continha 100 mg de simeticona. Cada cápsula foi dissolvida em 100 mL de HCl 4,8 M e 50 mL de tolueno para obter uma solução com uma concentração nominal de 2 mg/mL (concentração percentual de 100%). A extração seguiu o mesmo procedimento descrito para a solução padrão de simeticona.



Figura 2. A amostra de líquido é colocada na janela de amostra do módulo DialPath instalado no espectrômetro FTIR Agilent Cary 630.

Instrumentação

Dois espectrômetros FTIR Agilent Cary 630 foram usados neste estudo. O primeiro FTIR Cary 630 foi equipado com um módulo de transmissão projetado para uma cela de líquido tradicional desmontável com janelas de fluoreto de cálcio e um espaçador de 500 microns (Omni-cell, Specac Ltd., Reino Unido). O segundo FTIR Cary 630 foi equipado com um módulo Agilent DialPath com um caminho óptico de 500 microns (Figura 2).

As amostras foram divididas em dois lotes para análise paralela pelos dois espectrômetros FTIR utilizando o módulo de cela de líquido e o módulo DialPath. Para minimizar qualquer resíduo ou contaminação cruzada entre as amostras, a cela de líquidos foi lavada com grandes quantidades de tolueno. Apenas algumas gotas de isopropanol em um pano foram necessárias para limpar as duas janelas de amostra do DialPath. O software MicroLab foi usado para coletar os dados e criar um método para o cálculo direto da concentração da amostra. Para compensar a absorvância dos solventes da amostra, o sinal de fundo foi medido contra o branco na cela de líquidos e no DialPath, respectivamente. Os parâmetros para coleta de dados foram descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros para coleta de dados por FTIR usados para medições de quantificação usando a cela tradicional de líquidos e o módulo DialPath.

| Parâmetro | Configuração |
|---|-------------------------|
| Faixa espectral (cm ⁻¹) | 4.000 a 650 |
| Scans do sinal de fundo | 64 |
| Scans da amostra | 64 |
| Resolução espectral (cm ⁻¹) | 2 |
| Coleta do sinal de fundo | Foi utilizado um branco |
| Caminho óptico (microns) | 500* |

*Especificado na USP43-NF38

Resultados e discussão

Análise quantitativa: cela de transmissão tradicional desmontável vs DialPath

A análise quantitativa das amostras de simeticona foi realizada em dois FTIR Cary 630, um com uma cela de líquidos tradicional desmontável e o outro com o módulo DialPath. A absorvância máxima da banda em aproximadamente 1260 cm⁻¹ foi usada para quantificação. De acordo com a monografia USP43-NF38, os valores de absorvância para o padrão e as amostras podem ser usados para calcular a concentração percentual de simeticona pela equação 1 (1):

Equação 1:

$$\text{Concentração percentual} = \frac{A_U}{A_S} \cdot \frac{C_S}{C_U} \cdot 100\%$$

Em mais detalhes:

$$\text{Concentração percentual} = A_U \cdot \frac{1}{A_S} \cdot \frac{C_S}{C_U} \cdot 100\% \equiv A_U \cdot \left(\frac{1}{A_S} \cdot \frac{C_S}{C_U} \cdot 100\% \right)$$

$\equiv A_U \cdot (\text{fator de multiplicação})$

A_U = absorvância da solução da amostra

A_S = absorvância da solução padrão

C_S = concentração de simeticona na solução padrão

C_U = concentração nominal de simeticona na solução

Cálculo automático da concentração percentual

O software MicroLab guia os usuários por todo o fluxo de trabalho analítico usando imagens instrutivas e um design de fácil navegação. Ambos os métodos FTIR para a análise de rotina de soluções de simeticona usando o DialPath e a cela de líquidos foram criados no software MicroLab. Os métodos determinam automaticamente a absorvância máxima em ~1260 cm⁻¹ (usando a altura da banda com um componente único da linha de base) e o software aplica automaticamente o cálculo pela equação 1 (consulte a Figura 3).

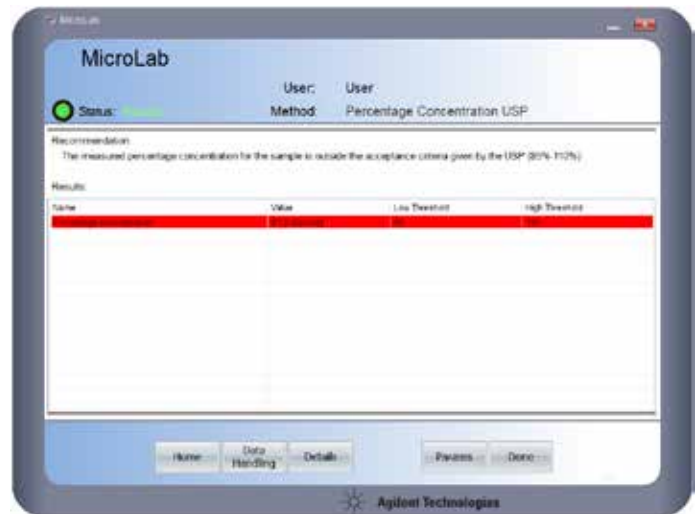
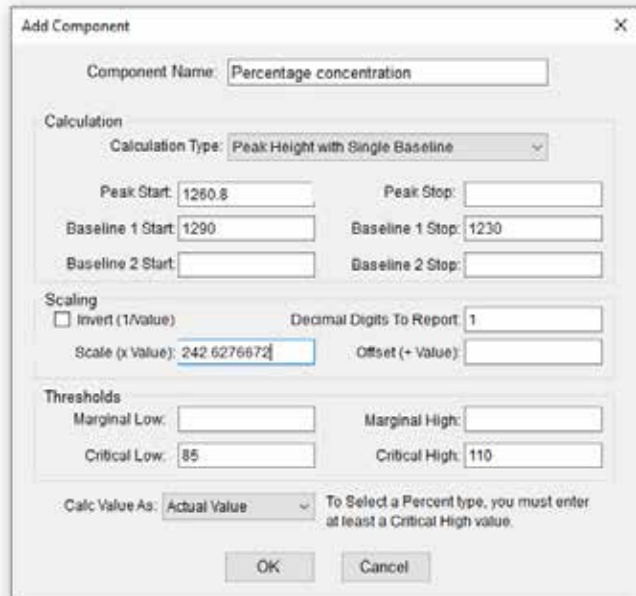


Figura 4. O software MicroLab foi utilizado para determinar a concentração percentual para as amostras de controle e cápsulas comerciais. Resultados executáveis com código de cores são relatados diretamente após a aquisição de dados, seguindo as configurações de limiar do método.

Figura 3. No software MicroLab, “componentes” são usados para calcular resultados quantitativos a partir dos espectros medidos. O componente mostrado acima determina automaticamente o valor de absorvância (A_{λ}) no ponto máximo da banda, neste exemplo em torno de $1260,8 \text{ cm}^{-1}$. A escala (valor x) então aplica um fator de multiplicação ao valor de absorvância para fornecer um resultado: Concentração percentual = valor de absorvância (A_{λ}) x fator de multiplicação, conforme explicado na equação 1. Neste estudo, o fator de multiplicação para o DialPath é 242,6276672.

A concentração percentual de simeticona em uma amostra é relatada diretamente após a aquisição de dados. Se quaisquer resultados estiverem fora dos critérios de aceitação de 85-110% especificados pela USP, eles serão marcados em vermelho, conforme mostrado na Figura 4 para a amostra de controle 1, que contém 81,2% de simeticona.

Os dois métodos do FTIR Cary 630 foram usados para determinar a concentração percentual das amostras de controle 1, 2 e 3 usando os módulos de cela de líquidos e DialPath. Os resultados na Tabela 2 mostram que os resultados mais precisos foram obtidos usando o acessório DialPath em comparação com a cela de líquidos.

Tabela 2. Concentração percentual de simeticona nas três amostras de controle medidas usando um FTIR Cary 630 com DialPath e um FTIR Cary 630 com cela de transmissão.

| Amostra de controle | Concentração percentual teórica de simeticona (%) | FTIR Cary 630 com DialPath | | FTIR Cary 630 com cela de transmissão | |
|---------------------|---|------------------------------------|--------------|---------------------------------------|--------------|
| | | Concentração percentual medida (%) | Precisão (%) | Concentração percentual medida (%) | Precisão (%) |
| 1 | 81,2 | 81,2 | 100 | 80,3 | 98,8 |
| 2 | 114,0 | 113,1 | 99,2 | 111,1 | 97,4 |
| 3 | 100,7 | 102,6 | 98,1 | 103,1 | 97,7 |

As concentrações percentuais de simeticona nas cápsulas comerciais medidas pelos dois FTIR Cary 630 equipados com DialPath e com a cela de líquidos estavam dentro da faixa de aceitação de 85,0-110,0% especificada na USP (Tabela 3) (1). Os resultados sugerem que o DialPath é uma técnica de amostragem adequada para a determinação de concentrações percentuais de simeticona em formulações de medicamentos líquidos de acordo com a exigência da USP.

Tabela 3. Concentrações percentuais das cápsulas comerciais de simeticona obtidas usando um FTIR com módulo DialPath e cela de transmissão.

| | Concentração percentual medida via DialPath (%) | Concentração percentual medida via cela de transmissão (%) |
|---------------------|---|--|
| Amostra comercial 1 | 101,3 | 103,8 |
| Amostra comercial 2 | 101,7 | 101,8 |
| Amostra comercial 3 | 102,4 | 102,6 |

O desempenho do FTIR Cary 630 com o módulo DialPath também foi avaliado em termos de exatidão, precisão, linearidade e faixa de concentração.

Precisão da medição

Um teste de método de adição padrão foi realizado para verificar a precisão das medições com o DialPath. Três alíquotas de uma amostra com uma concentração percentual nominal de 97,3% de simeticona sofreram adições de 5, 10 e 15% de simeticona com volumes precisos de uma solução padrão de simeticona de alta concentração. Cada amostra com adição foi medida três vezes e a recuperação média foi calculada de acordo com a seguinte equação:

$$\text{Equação 2: \% de recuperação} = (C_1/C_2) \times 100$$

C_1 = concentração percentual medida

C_2 = concentração percentual calculada

Os resultados das recuperações na Tabela 4 estavam todos na faixa de 100,5%, sugerindo que medições altamente precisas podem ser obtidas com o FTIR Cary 630 equipado com o módulo DialPath.

Tabela 4. Análise de uma amostra de simeticona com adição de simeticona em três concentrações percentuais usando o FTIR Cary 630 com módulo DialPath para determinar a precisão do método, n=3.

| Concentração percentual da amostra (%) | Concentração percentual com adição (%) | Concentração percentual calculada (%) | Concentração percentual medida (%) | Recuperação média (%) |
|--|--|---------------------------------------|------------------------------------|-----------------------|
| 97,3 | 5,0 | 102,3 | 102,4 | 100,1 ± 0,2 |
| 97,3 | 10,0 | 107,3 | 107,8 | 100,5 ± 0,4 |
| 97,3 | 15,0 | 112,3 | 112,7 | 100,4 ± 0,1 |

Precisão da medição

A precisão do FTIR Cary 630 com medições usando o DialPath foi avaliada através de um estudo de repetibilidade. Uma solução de simeticona foi dividida em seis porções, e cada porção foi analisada separadamente. A repetibilidade dos resultados foi avaliada pelo cálculo da média e desvio padrão para a absorvância e a concentração percentual de simeticona (Tabela 5). O FTIR Cary 630 com módulo DialPath apresentou excelente precisão com um desvio padrão de apenas 0,0013 nas medições de absorvância e 0,34% nas medições de concentração.

Tabela 5. Estudo de repetibilidade do FTIR Cary 630 com DialPath em seis medições da mesma amostra.

| | Absorvância | Concentração percentual da amostra (%) |
|---------------------|-------------|--|
| Porção da amostra 1 | 0,4154 | 100,8 |
| Porção da amostra 2 | 0,4144 | 100,5 |
| Porção da amostra 3 | 0,4137 | 100,4 |
| Porção da amostra 4 | 0,4167 | 101,1 |
| Porção da amostra 5 | 0,4158 | 100,9 |
| Porção da amostra 6 | 0,4178 | 101,4 |
| Média | 0,4156 | 100,9 |
| Desvio padrão | 0,0013 | 0,34 |

Linearidade de calibração e faixa de concentração

A linearidade entre a concentração do analito e a leitura da absorbância usando o módulo DialPath foi demonstrada criando uma curva de calibração e avaliando a curva usando regressão de mínimos quadrados. Os padrões de calibração para as cinco concentrações diferentes de simeticona foram preparados na faixa de concentração percentual de 0–190% através das diluições apropriadas. A altura da banda correspondente à simeticona ($1260,8\text{ cm}^{-1}$) foi usada para avaliar a linearidade da resposta espectral com o DialPath. Essas medições foram utilizadas para traçar a curva de calibração e também para calcular o coeficiente de correlação (R^2) da curva de calibração. A curva de calibração foi criada e todos os cálculos estatísticos foram realizados usando o software MicroLab Quant.

O gráfico da altura da banda de simeticona (em $1260,8\text{ cm}^{-1}$) em função da concentração indica que a resposta espectral do DialPath possui linearidade excelente com um coeficiente de correlação de $R^2=0,9997$ (Figura 5).

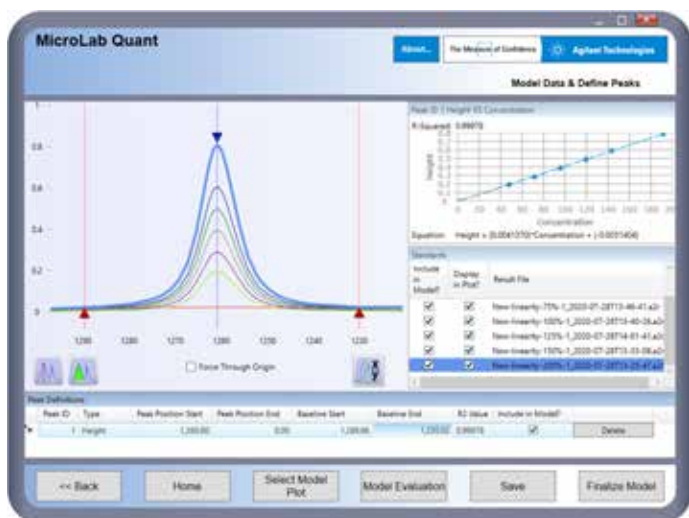


Figura 5. Avaliação da linearidade do DialPath usando o software MicroLab Quant. As curvas de calibração e cálculos de coeficiente de correlação são executados automaticamente pelo software. Os usuários podem relatar os resultados obtidos para fins de documentação.

Produtividade das amostras e utilização de recursos

A quantificação de simeticona usando o FTIR Cary 630 com o módulo DialPath oferece uma produtividade das amostras significativamente maior, minimiza o volume da amostra e reduz o descarte de solvente quando comparado com a análise usando a cela de transmissão de líquidos (consulte a Figura 6).

Em uma hora de tempo de análise, o DialPath permitiu a análise de 40 extratos de amostra, o dobro de amostras analisados com a cela de líquidos. O tempo de aquisição de dados foi de aproximadamente 1 min para ambas as técnicas de amostragem. Além disso, o DialPath precisou de apenas $20\text{ }\mu\text{L}$ de solução de amostra de simeticona, enquanto a cela de líquidos exigiu 5 mL de cada amostra.

Para evitar a contaminação cruzada, a cela de líquidos precisa ser lavada várias vezes antes de injetar a próxima amostra. O DialPath pode ser limpo com um pano e algumas gotas de solvente, oferecendo redução no descarte de solvente, além de economia de custos com solvente e descarte de resíduos. O DialPath é uma técnica de amostragem simples e fácil de usar que supera a complexidade associada à cela de transmissão de líquidos (por exemplo, com a limpeza entre cada amostra, garantir que não haja bolhas de gás presas e manuseio adequado das placas de abertura). O DialPath oferece economia considerável de amostra, tempo e custo.

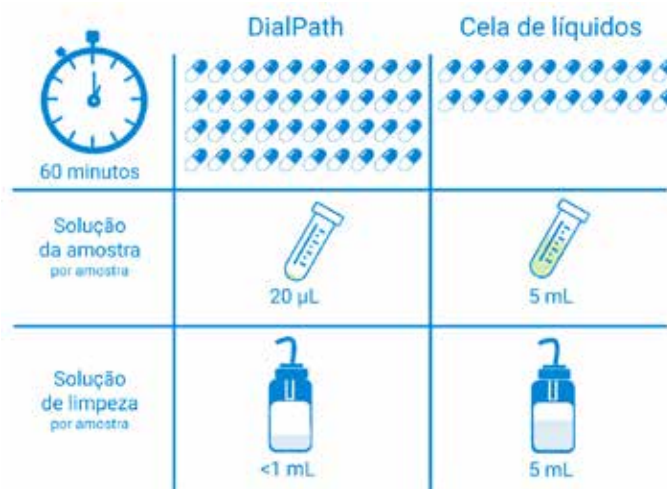


Figura 6. Painel de comparação após 60 min de análise de extratos de simeticona usando o FTIR Cary 630 com o módulo DialPath e o FTIR Cary 630 com uma cela de transmissão tradicional de líquidos.

Conclusão

Nesta nota de aplicação, o FTIR Cary 630 equipado com um acessório de amostragem por transmissão altamente eficiente (DialPath) foi usado para a análise quantitativa rápida de amostras farmacêuticas líquidas.

O desempenho, a velocidade de análise e a amostragem inovadora do FTIR Agilent Cary 630 com o módulo DialPath possibilitaram o rápido desenvolvimento e implantação de um método quantitativo para a medição de simeticona.

A qualidade dos dados quantitativos gerados pelo FTIR Cary 630 com DialPath foi comparável ou melhor que os resultados fornecidos por um FTIR Cary 630 com uma cela tradicional. No entanto, a facilidade de uso do DialPath ofereceu considerável economia de tempo e custo em comparação com o uso de celas de líquidos tradicionais, tornando-o ideal para aplicações farmacêuticas.

O FTIR Cary 630 com DialPath proporcionou uma calibração altamente linear, até 190% de simeticona, com excelente repetibilidade. A excelente exatidão e precisão dos dados analíticos obtidos para a medição de simeticona demonstraram a eficácia da instrumentação, método e resultados analíticos.

O FTIR Cary 630 atende aos requisitos de desempenho da farmacopeia global, como a Farmacopeia Europeia, dos Estados Unidos, da Índia e do Japão. O software MicroLab Pharma opcional facilita a conformidade como definido pelo US FDA 21 CFR Parte 11, Anexo 11 da UE e regulamentos de registros eletrônicos nacionais semelhantes.

Referência

1. Emulsão de simeticona. United States Pharmacopeia and National Formulary (USP43-NF38-4044). DocID: GUID-4965A93F-3617-485C-87B4-1DFBDF33EC3F_4_en-US.

www.agilent.com/chem

DE44297.9470717593

Estas informações estão sujeitas a alterações sem aviso prévio.

© Agilent Technologies, Inc. 2021
Impresso nos EUA, 14 de abril de 2021
5994-3046PTBR