

## Análisis de disolventes residuales con un sistema GC Agilent Intuvo 9000 con muestreador de espacio de cabeza 8697



### Autor

Ian Eisele  
Agilent Technologies, Inc.

### Resumen

De acuerdo con la Farmacopea de Estados Unidos (USP), sección <467>, se analiza un disolvente residual en un muestreador de espacio de cabeza Agilent 8697 con un cromatógrafo de gas (GC) Agilent 9000 Intuvo. El sistema GC Intuvo 9000 está equipado con columnas y detectores dobles de ionización de llama (FID) con el accesorio D2 en el segundo FID.

## Introducción

El análisis de disolventes residuales es esencial en la industria farmacéutica. Por lo general, estos compuestos orgánicos volátiles son fundamentales para producir fármacos. Sin embargo, no se desea que estén presentes en el producto final. La sección <467> de la USP especifica los límites aceptables de estos disolventes residuales, los clasifica en tres categorías e indica cómo proceder con el análisis. En cada uno de los métodos recogidos en la sección <467> de la USP, procedimientos A y B, se utiliza una sola fase de columna. Entre los dos procedimientos se pueden separar todos los disolventes de clase 1 y de clase 2, y es posible llevar a cabo una prueba del límite de concentración. La metilisobutilcetona (MIBK) se añade a la lista de disolventes de clase 2A según el Anuncio provisional de revisión para 2019 y 2020 de la sección <467> de la USP. Actualmente, la MIBK también se utiliza de acuerdo con el requisito de resolución del procedimiento B.<sup>1</sup> Del mismo modo, se recomienda incluir otros dos disolventes a la lista de disolventes de clase 2 de la sección <467> de la USP de acuerdo con la ICH Q3C(R8).<sup>2</sup> Estos dos nuevos disolventes, ciclopentil metil éter (CPME) y alcohol terbutílico (TBA), todavía no se han incluido oficialmente en la sección <467> de la USP.

## Experimento

### Patrones

Los patrones de disolventes residuales se obtienen de Agilent en el caso de los disolventes de clase 1 (referencia 5190-0490), de clase 2A (referencia 5190-0492) y de clase 2B (referencia 5190-0513). Cada mezcla se prepara de acuerdo con su concentración límite de 500 ml de agua ultrapura en botellas de 1 l. Los disolventes MIBK, TBA y CPME se marcaron en la solución de clase 2A según sus respectivas concentraciones límite. También se marca el cumeno en una solución de clase 2B según su concentración límite, dado que no se encontraba en la mezcla de disolventes de clase 2B. Se reparten con Brand Dispensette seis mililitros de cada solución en viales para espacio de cabeza de 20 ml. Los viales se tapan inmediatamente con tapones de encapsulado con y recubiertos de PTFE.

### Método

En la sección <467> de la USP se describe el uso de diferentes fases de columna para separar los disolventes de clase 1 y 2 en los dos procedimientos, A y B. En el procedimiento A se utiliza una fase G43 (Agilent DB-Select 624 UI) y en el procedimiento B, una fase G16 (Agilent DB-WAX UI). Ambos procedimientos se combinan en un solo análisis de doble columna y doble FID. La línea de transferencia del muestreador de espacio de cabeza Agilent 8697 se conecta directamente a través del séptum de entrada del espacio de cabeza al sistema GC Agilent 9000 Intuvo. Un chip divisor de muestreador permite que el flujo del muestreador se divida de forma equitativa entre las dos columnas. Estas dos columnas están a su vez conectadas a dos FID, uno montado en el sistema

Agilent 9000 Intuvo y el otro, en el lateral del accesorio D2.

Los parámetros del método se basan en lo que se indica en la sección <467> de la USP, así como en la publicación previa sobre el muestreador de espacio de cabeza Agilent 7697A (Tabla 1).<sup>3,4</sup> El muestreador de espacio de cabeza 8697 proporciona los mismos parámetros que se incluyen en el sistema HSS Agilent 7697A, lo que simplifica en gran medida la transferencia de métodos entre ambos instrumentos. No solo los parámetros del método son idénticos en el caso de los sistemas HSS 8697 y 7697A, sino que además contienen la misma ruta de flujo de muestras y las mismas funciones generales de muestreo e inyección. El único parámetro del espacio de cabeza que se ajusta en comparación con el estudio previo en el sistema HSS 7697A es la presión final del loop. En el estudio anterior se utilizó una presión final del loop de 0 psi a diferencia del comportamiento de llenado del loop predeterminado, que dio lugar, en última instancia, a la inyección de un volumen menor de muestra en el sistema de GC. A pesar de que la presión final del loop de 0 psi proporciona una resolución mayor, lo hace a costa de una pérdida de precisión en la inyección, dado que la presión del loop funciona en modo de control de retropresión pasivo. Al establecer la presión final del loop en 4 psi, su repercusión en la resolución es desdoblable y, sin embargo, sigue ofreciendo un control activo de la retropresión del loop de muestra que aumenta la precisión de la inyección.<sup>5</sup> Las condiciones del método de GC siguen siendo prácticamente idénticas a las del estudio publicado previamente. Las únicas modificaciones introducidas son un flujo más elevado, de 10:1, y un tiempo de retención inicial del horno más prolongado, de 5,5 minutos.

**Tabla 1.** Condiciones del instrumento para el muestreador de espacio de cabeza Agilent 8697 y el sistema GC Agilent 9000 Intuvo.

Parámetro	Valor
<b>Espacio de cabeza</b>	
Horno	85 °C
Loop	85 °C
Temperatura de la línea de transferencia	100 °C
Línea de transferencia	Sílice fundida, 530 µm d. i.
Equilibrado del vial	40,00 min
Duración de la inyección	0,50 min
Agitación del vial	Nivel 2, 25 agitaciones/min
Modo de llenado del vial	Predeterminado
Presión de llenado del vial	15 psi
Gas de presurización de vial	Nitrógeno
Modo de llenado del loop	Personalizado, 20 psi/min
Presión final de loop	4 psi
Tiempo de equilibrio de loop	0,05 min
Volumen de loop	1,0 ml
<b>Injector Split/splitless (SSL)</b>	
Modo	Split
Calentador	140 °C
Gas portador	Helio
Relación de split	10:1
Flujo de split	20 ml/min
Purga del séptum	3 ml/min
Liner	Ultrainerete, recto, 0,75 mm de d. i., (ref. 5190-4048)
Séptum	Espacio de cabeza de 9 mm (ref. 5183-4801)
Chip puente	140 °C (ref. G4587-60575)
<b>Columnas</b>	
Columna 1(procedimiento A)	Agilent DB-Select 624 UI, 30 m × 320 µm, 1,8 µm (ref: 624 123-0334UI-INT); 2 ml/min, flujo constante
Columna 2 (procedimiento B)	Agilent DB-WAX UI, 30 m × 320 µm, 0,25 µm (ref: 123-7032UI-INT); 2 ml/min, flujo constante
Chip de inyector	Chip divisor de inyector (ref: G4588-60601)
Temperatura del bus	Predeterminado
Horno	40 °C durante 5,5 min 15 °C/min hasta 180 °C, 2,5 min
<b>Detector (FID)</b>	
Calentador	250 °C
Aire	400 ml/min
H <sub>2</sub>	30 ml/min
Auxiliar	N <sub>2</sub> a 25 ml/min

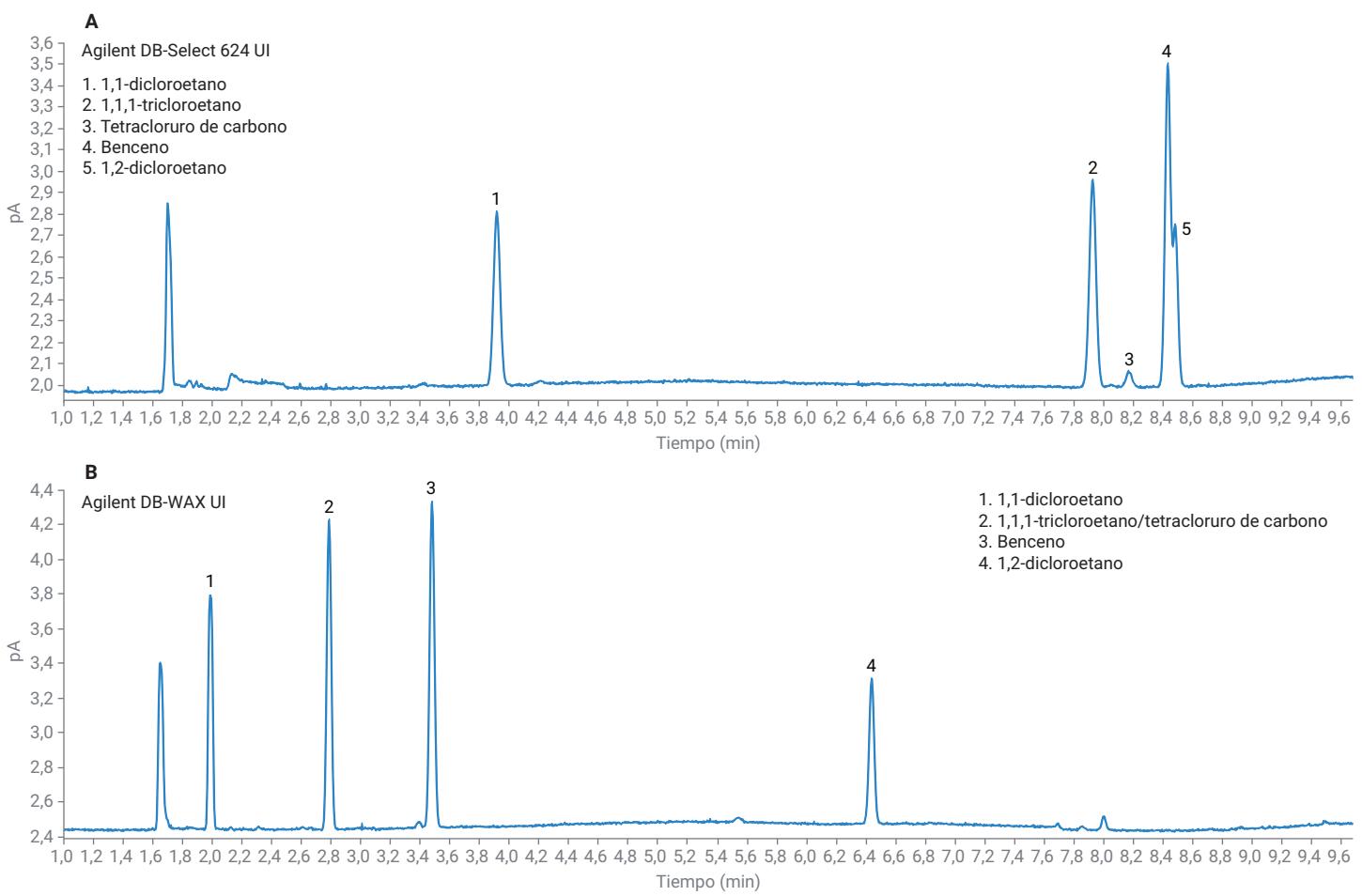
## Resultados y comentarios

### Disolventes de clase 1

Los disolventes de clase 1 tienen los límites de aceptación más bajos de los disolventes de la sección <467> de la USP. Por tanto, es fundamental garantizar que el sistema cumpla los criterios de relación señal-ruido (S/N) que se especifican en el método. En la sección <467> de la USP se indica que la relación señal-ruido de todos los disolventes de clase 1 no sea inferior a 3 en ambos procedimientos. En el método se dispone de forma específica que la relación señal-ruido del 1,1,1-tricloroetano no sea inferior a 5 en el procedimiento A y, en el procedimiento B, esta relación no puede ser inferior a 5 en el benceno. Se cumplen y se superan las expectativas sobre la relación señal-ruido de los disolventes de clase 1, con una área de pico y una precisión del tiempo de retención excelentes (Tabla 2, Figura 1).

**Tabla 2.** Precisión del tiempo de retención y del área de pico ( $n = 10$ ). Los valores marcados como No disponible eran coeluciones.

Compuesto	Procedimiento A	Procedimiento A	Procedimiento B	Procedimiento B
	TR %RSD	Área %RSD	TR %RSD	Área %RSD
<b>Clase 1</b>				
1,1,1-tricloroetano	0,01	3,2	No disponible	No disponible
1,1-dicloroetano	0,02	3,1	0,05	2,8
1,2-dicloroetano	0,01	1,6	0,03	1,0
Benceno	0,01	1,3	0,03	1,6
Tetracloruro de carbono	0,04	3,8	No disponible	No disponible
<b>Clase 2A</b>				
1,4-dioxano	0,01	1,7	0,03	1,6
Acetonitrilo	0,02	1,6	0,04	1,7
Clorobenceno	0,01	0,9	0,01	1,1
cis-1,2-dicloroeteno	0,01	1,0	0,04	0,8
Ciclohexano	0,01	1,5	0,03	1,5
Ciclopentil metil éter	No disponible	No disponible	0,04	1,0
Etilbenceno	0,01	1,1	0,01	1,3
Metanol	0,09	1,4	0,04	1,3
Metilciclohexano	0,01	1,4	0,02	1,7
Cloruro de metileno	0,01	0,7	0,04	0,9
Metilisobutilcetona	No disponible	No disponible	0,04	1,1
m-xileno	No disponible	No disponible	0,03	1,4
o-xileno	0,01	1,0	0,02	1,4
p-xileno	No disponible	No disponible	0,03	1,4
Alcohol terc-butílico	0,03	1,8	0,04	1,6
Tetrahidrofurano	0,01	1,5	No disponible	No disponible
Tolueno	0,01	1,1	0,04	0,9
trans-1,2-dicloroeteno	0,01	1,0	No disponible	No disponible
<b>Clase 2B</b>				
1,2-dimetoxietano	0,02	4,4	0,06	1,5
2-hexanona	0,01	3,1	0,02	1,6
Cloroformo	0,01	3,0	0,06	1,4
Cumeno	0,01	1,8	0,04	1,8
Hexano	0,02	1,1	0,03	1,3
Nitrometano	0,02	2,4	0,06	2,2
Piridina	0,01	3,4	0,03	4,7
Tetralina	0,01	2,1	0,01	1,9
Tricloroeteno	0,01	2,3	0,03	1,2



**Figura 1.** Cromatogramas de los disolventes de clase 1, (A) procedimiento A y (B) procedimiento B.

## Disolventes de clase 2A

La categoría de disolventes de clase 2A abarca la mayor cantidad de disolventes que recoge la sección <467> de la USP. Por lo tanto, el interés principal radica en la resolución. La sección <467> de la USP contiene requisitos de resolución específicos para cada uno de los procedimientos. En el procedimiento A se pide una resolución que no sea inferior a 1,0 entre el acetonitrilo y el cloruro de metileno, mientras que para el procedimiento B es necesaria una resolución que no sea inferior a 1,0 entre la metilisobutilcetona y el *cis*-dicloroeteno. Se cumplen y superan los dos requisitos. Las coeluciones

que pudieran haber sucedido en el procedimiento A se resuelven en el procedimiento B, como los tres disolventes que se añadieron a esta clase (Figura 2). El área de pico y la precisión del tiempo de retención de todos los disolventes de clase 2A fueron excelentes, con las SRD de todas las áreas de pico inferiores al 2 % en ambos procedimientos (Tabla 2). La relación de split más elevada y el tiempo de retención inicial del horno más prolongado contribuyen a alcanzar una mayor resolución cromatográfica general. En particular, en el caso de MIBK y acetonitrilo en la columna DB-WAX UI, la resolución aumenta mientras se

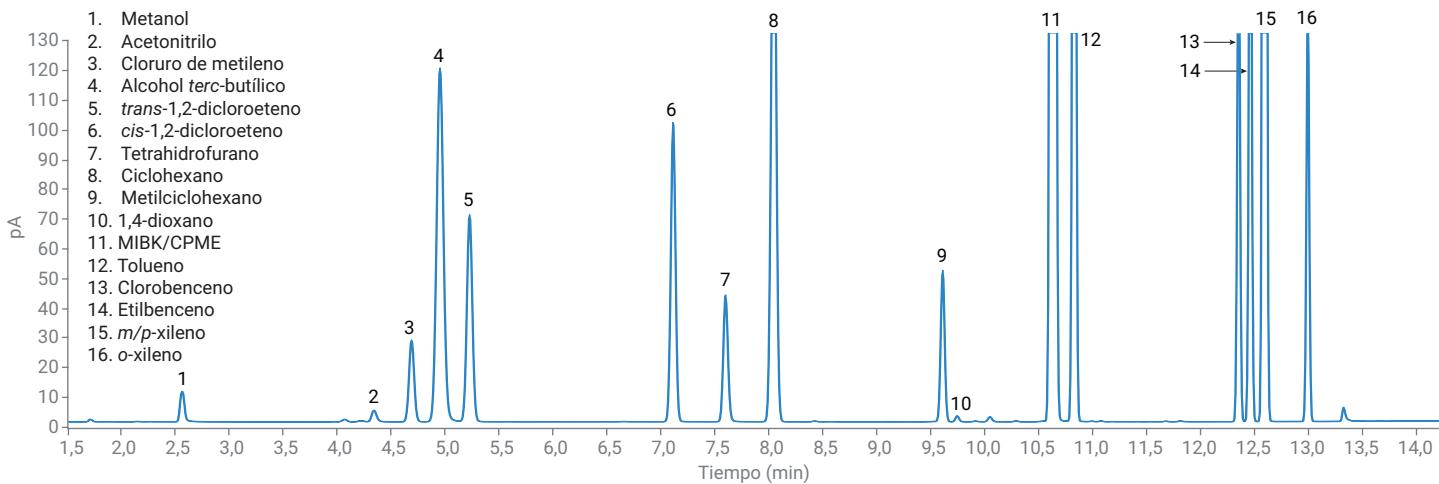
siguen cumpliendo los requisitos de relación señal-ruido para los disolventes de clase 1 (Figura 3). No obstante, si fuera necesario aumentar la sensibilidad, el flujo de 5:1 más reducido también cumple los requisitos de resolución para los disolventes de clase 2A.

## Disolventes de clase 2B

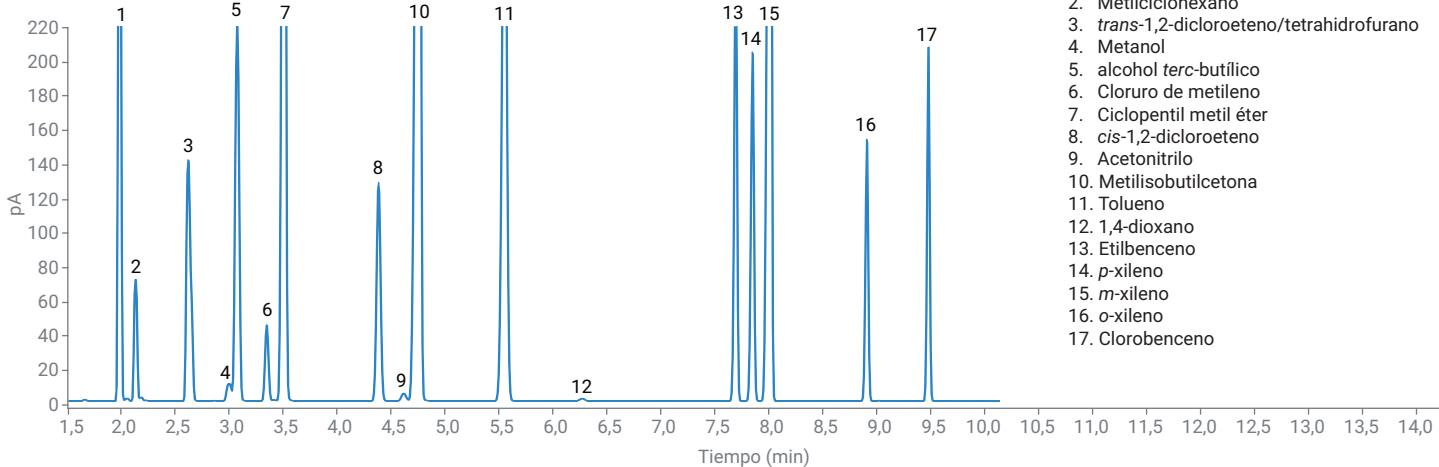
En el caso de los disolventes de clase 2B no existen requisitos de rendimiento. No se producen coeluciones en ninguna de las columnas y, de nuevo, los resultados que se alcanzan son excelentes respecto al área de pico como con la precisión del tiempo de retención (Tabla 2, Figura 4).

A Agilent DB-Select 624 UI

1. Metanol
2. Acetonitrilo
3. Cloruro de metileno
4. Alcohol terc-butílico
5. *trans*-1,2-dicloroeteno
6. *cis*-1,2-dicloroeteno
7. Tetrahidrofurano
8. Ciclohexano
9. Metilciclohexano
10. 1,4-dioxano
11. MIBK/CPME
12. Tolueno
13. Clorobenceno
14. Etilbenceno
15. *m/p*-xileno
16. *o*-xileno

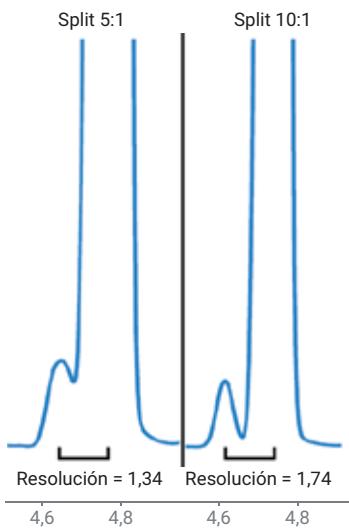


B Agilent DB-WAX UI

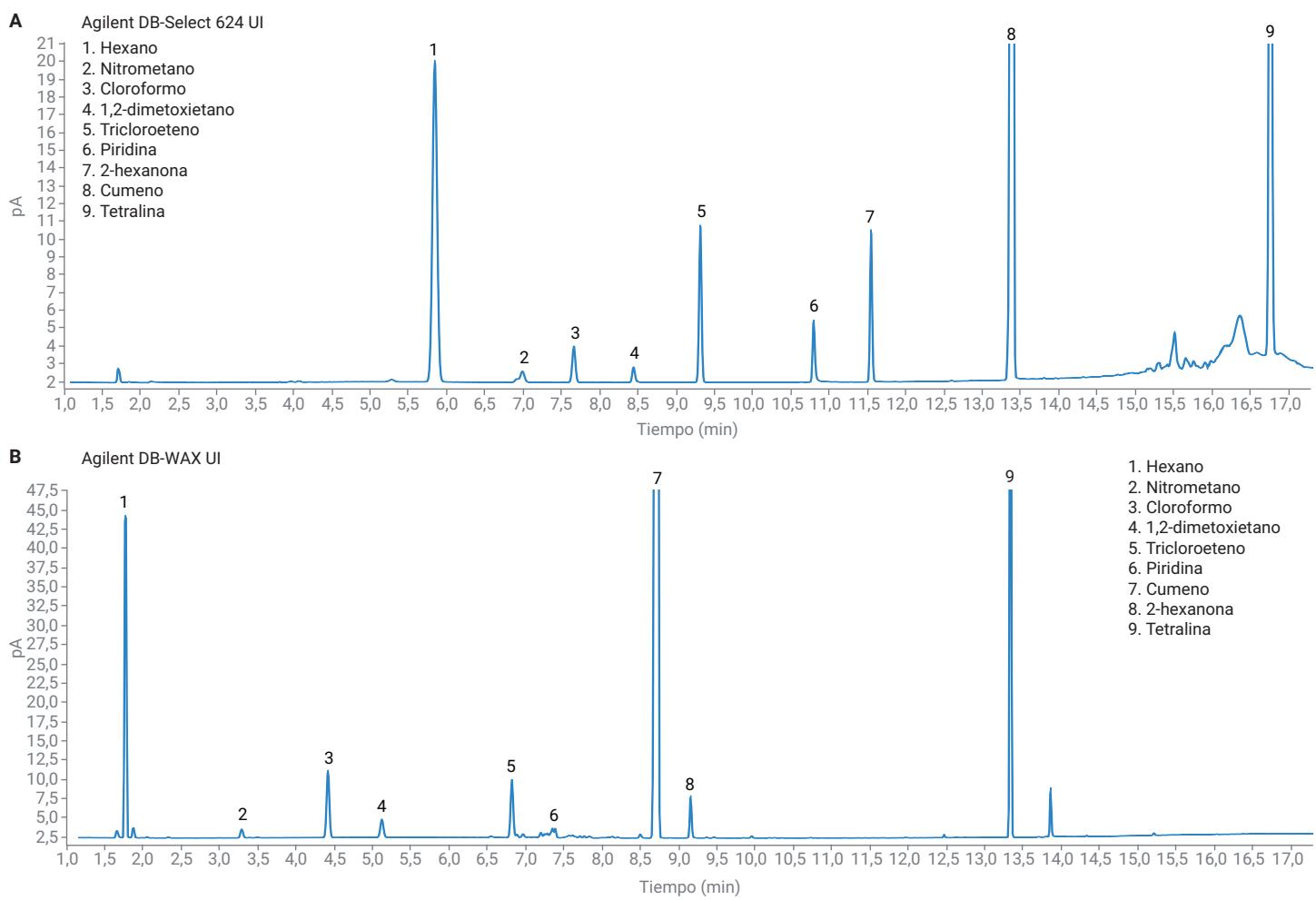


1. Ciclohexano
2. Metilciclohexano
3. *trans*-1,2-dicloroeteno/tetrahidrofurano
4. Metanol
5. alcohol terc-butílico
6. Cloruro de metileno
7. Ciclopentil metil éter
8. *cis*-1,2-dicloroeteno
9. Acetonitrilo
10. Metilisobutilcetona
11. Tolueno
12. 1,4-dioxano
13. Etilbenceno
14. *p*-xileno
15. *m*-xileno
16. *o*-xileno
17. Clorobenceno

Figura 2. Cromatogramas de los disolventes de clase 2A, (A) procedimiento A y (B) procedimiento B.



**Figura 3.** Resolución USP entre acetonitrilo y MIBK en una columna Agilent DB-WAX UI. Relación de split 5:1 frente a 10:1.



**Figura 4.** Cromatogramas de los disolventes de clase 2B, (A) procedimiento A y (B) procedimiento B.

## Conclusión

El muestreador de espacio de cabeza Agilent 8697 demuestra su extraordinario rendimiento en el análisis de disolventes residuales de acuerdo con la sección <467> de la USP. Los resultados también confirman que las condiciones del método del muestreador de espacio de cabeza 7697 se pueden utilizar con el sistema HSS 8697 para lograr resultados de rendimiento comparables.

## Referencias

1. USP <467> Residual Solvents. [https://www.uspnf.com/sites/default/files/usp\\_pdf/EN/USPNF/revisions/gc-467-residual-solvents-ira-20190927.pdf](https://www.uspnf.com/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/revisions/gc-467-residual-solvents-ira-20190927.pdf) (acceso en agosto de 2020).
2. Impurezas: Guideline for Residual Solvents Q3C(R8). <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/q3cr8-recommendations-permitted-daily-exposures-three-solvents-2-methyltetrahydrofuran-cyclopentyl> (acceso en agosto de 2020).
3. Residual Solvents Analysis Using an Agilent Intuvo 9000 GC system. Nota de aplicación de Agilent Technologies, número de publicación 5991-9029ES, **2018**.
4. Firor, R. L. Analysis of USP <467> Residual Solvents with Improved Repeatability Using the Agilent 7697A Headspace Sampler. Nota de aplicación de Agilent Technologies, número de publicación 5990-7625ES, **2012**.
5. System Parameter and Performance Comparison Between Agilent 7697A and G1888A Headspace Sampler for USP <467>. Resumen técnico de Agilent Technologies, número de publicación 5991-5182ES, **2014**.

[www.agilent.com/chem](http://www.agilent.com/chem)

Esta información está sujeta a cambios sin previo aviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2021  
Impreso en EE. UU., 22 de marzo de 2021  
5994-3075ES