Analisi di solventi residui tramite il sistema GC Agilent Intuvo 9000

Vantaggio tecnologico: analisi semplificata con doppia colonna con modularità Flow-Chip



Introduzione

La procedura <467> della United States Pharmacopoeia (USP) definisce un metodo per l'analisi dei solventi residui nei farmaci. Il solvente scelto in fase di produzione può migliorare la resa o incidere sulle proprietà chimiche del prodotto sintetizzato. I solventi non aumentano l'efficacia di un prodotto e devono essere rimossi nella misura più completa possibile per rispettare la specifica di prodotto e le procedure GMP[1]. Pertanto, l'analisi dei solventi residui dei processi di produzione o purificazione è un elemento imprescindibile della fabbricazione.

Il capitolo USP <467> prevede l'analisi con una singola colonna e la conferma su un secondo sistema configurato con una diversa colonna analitica in grado di ottenere tempi di ritenzione diversi. Nel caso dei sistemi gascromatografici convenzionali, questa analisi richiede due acquisizioni analitiche separate. Un sistema GC Agilent Intuvo 9000 dotato di splitter dell'iniettore per la doppia rivelazione a ionizzazione di fiamma (FID) permette di eseguire contemporaneamente entrambe le analisi, dimezzando i tempi.

Per maggiori informazioni visita il sito:
www.agilent.com

Agilent
Trusted Answers

Condizioni sperimentali

Un sistema GC Intuvo 9000 è stato equipaggiato con un campionatore per spazio di testa Agilent 7697A. Sono state preparate e valutate soluzioni di standard di classe 1, classe 2A e classe 2B secondo la metodologia USP <467>. La soluzione di classe 1 è stata preparata a partire da una fiala concentrata Agilent (codice 5190-0490) diluendo 1 mL dello standard e 9 mL di dimetilsolfossido in 100 mL di acqua (stock 1). Lo stock 2 è stato preparato per diluizione di 1 mL di stock 1 in 100 mL di acqua. Infine, 10 mL di stock 2 sono stati portati a 100 mL con acqua per preparare lo stock 3. Lo stock 3 è stato impiegato per preparare i vial per spazio di testa.

Le soluzioni Agilent classe 2A (codice 5190-0492) e classe 2B (codice 5190-0513) sono state preparate per diluizione di 1 mL dello standard con 100 mL di acqua per le rispettive classi.

I vial per spazio di testa sono stati preparati aggiungendo 1 mL di soluzione diluita di ciascuna classe in 5 mL di acqua.

I campioni replicati sono stati analizzati con il campionatore per spazio di testa 7697A e il sistema GC Intuvo 9000 configurato con uno splitter dell'iniettore per doppia colonna e doppia rivelazione.

I parametri dello strumento visualizzati in Tabella 1 e Tabella 2 sono quasi identici a quelli di un lavoro precedente[2]. Per ottenere il massimo vantaggio dall'offerta di colonne disponibili per questa applicazione, sono state scelte due diverse colonne: Agilent DB-624 Select Ultra Inert (UI) e Agilent DB-WAX Ultra Inert (UI). L'integrazione del Guard Chip e del bus è una caratteristica esclusiva del sistema GC Intuvo 9000. In considerazione dell'alto grado di purezza del campione introdotto, si è optato per il Jumper Chip. È stato mantenuto alla temperatura dell'iniettore per trasferire il campione dall'iniettore attraverso il Jumper Chip fino allo splitter dell'iniettore. Il bus è stato mantenuto all'impostazione predefinita.

Tabella 1. Sono riportate le condizioni strumentali per il sistema GC Agilent Intuvo 9000.

Sistema GC Agilent Intuvo 9000	Impostazione
Forno	40 °C (5 minuti), 15 °C/min fino a 180 °C (3 minuti)
Iniettore split/splitless	Split 5:1, 140 °C
DB-624 Select Ultra Inert (123-0334UI-INT) 30 m × 320 µm, 1,8 µm	Flusso costante 2 mL/min
DB-WAX Ultra Inert (123-7032UI-INT) 30 m × 320 µm, 0,25 µm	Controllata dalla colonna 1
FID (anteriore e posteriore)	250 °C
H_2	30 mL/min
Aria	400 mL/min
N_2 (make-up)	25 mL/min
Jumper Chip	140 °C
Bus	200 °C
Segnale anteriore/posteriore	20 Hz

Tabella 2. Sono riportate le condizioni strumentali per il campionatore per spazio di testa Agilent 7697A.

Campionatore per spazio di testa Agilent 7697A	Impostazione
Forno	85 °C
Loop	85 °C
Transfer line	100 °C
Tempo di equilibrazione del vial	40 minuti
Durata dell'iniezione	0,5 minuti
Dimensioni del vial	10 mL
Agitazione del vial	Livello 2, 25 agitazioni/min
Modalità di riempimento del vial	Predefinita (50 mL/min a 15 psi (0,1 minuti))
Pressione di riempimento del vial	15 psi
Velocità della rampa per il loop	20 psi/min
Pressione finale del loop	0 psi
Tempo di equilibrazione del loop	0,05 minuti



Campionatore per spazio di testa Agilent 7697A.

Risultati e discussione

Sono stati preparati nove vial per spazio di testa per ciascuno standard di solvente (classi 1, 2A e 2B) ed è stata valutata la ripetibilità (area e tempo di ritenzione). Con entrambe le colonne è stata ottenuta un'eccellente ripetibilità del tempo di ritenzione per le tre classi oggetto della valutazione. La maggior parte degli analiti ha mostrato una deviazione standard relativa (RSD) <0,1% per quanto riguarda la ripetibilità del tempo di ritenzione. Anche la ripetibilità dell'area è risultata buona, con un valore RSD pari o inferiore a 5% per tutti gli analiti su entrambe le colonne. La maggior parte degli analiti presentava un valore RSD dell'area pari o inferiore a 2%. Nelle Tabelle 3-5 sono riportate le misure di ripetibilità del tempo di ritenzione e dell'area per le tre classi sulle due colonne.

La classe 1 ha evidenziato i valori RSD più alti per l'area (Tabella 3). A causa delle diluizioni seriali eseguite per la classe 1, la concentrazione finale è la più bassa tra le tre classi valutate. Tale diluizione genera una maggiore variabilità, in quanto è una misura della riproducibilità della preparazione del campione, della precisione dello strumento e dell'uniformità dell'integrazione dei picchi.

La classe 2A ha presentato i migliori risultati in termini di precisione dell'area (Tabella 4). Si tratta probabilmente di una conseguenza della concentrazione valutata, che era più elevata rispetto alla classe 1 e alla classe 2B. La classe 2B rientra in un intervallo più ampio di concentrazioni, cosa che si riflette nell'intervallo più ampio di valori RSD ottenuti per l'area (Tabella 5). Nel caso degli analiti a concentrazione più bassa o caratterizzati da un maggior grado di asimmetria (*n*-esano, nitrometano e 1,2-dimetossietano), i valori RSD dell'area sono leggermente più alti rispetto a quelli degli analiti a risposta maggiore e picchi simmetrici (tetralina). La ripetibilità del tempo di ritenzione è risultata eccellente indipendentemente da classe, risposta o simmetria. Fatta eccezione per il nitrometano (0,4%), tutti gli analiti evidenziavano una ripetibilità del tempo di ritenzione pari o inferiore a 0,2% e la maggior parte una precisione addirittura migliore con valori <0,1%.

Tabella 3. Precisione del tempo di ritenzione e ripetibilità dell'area del picco per composti di classe 1 valutati con lo splitter dell'iniettore sul sistema GC Agilent Intuvo 9000.

Composto	RSD RT (%) su Agilent DB-624	RSD area (%) su Agilent DB-624	RSD RT (%) su Agilent DB-WAX	RSD area (%) su 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 di carbonio	0,11%	4,8%	Coeluisce con 1,1, 1-tricloroetano	Coeluisce con 1,1, 1-tricloroetano
Benzene	0,017%	2,2%	0,055%	1,5%
1,2-dicloroetano	0,016%	3,9%	0,067%	1,8%

Tabella 4. Precisione del tempo di ritenzione e ripetibilità dell'area del picco per composti di classe 2A valutati con lo splitter dell'iniettore sul sistema GC Agilent Intuvo 9000.

Composto	RSD RT (%) su Agilent DB-624	RSD area (%) su Agilent DB-624	RSD RT (%) su Agilent DB-WAX	RSD area (%) su Agilent DB-WAX
Metanolo	0,23%	1,3%	0,22%	1,3%
Acetonitrile	0,023%	2,1%	0,039%	2,0%
Cloruro di metilene	0,018%	0,98%	0,033%	0,78%
trans-1,2-dicloroetene	0,016%	0,85%	0,023%	0,72%
cis-1,2-dicloroetene	0,012%	0,76%	0,039%	0,78%
Tetraidrofurano	0,018%	0,95%	Coeluisce con il cloruro di metilene	Coeluisce con il cloruro di metilene
Cicloesano	0,011%	0,96%	0,013%	0,96%
Metilcicloesano	0,0087%	0,98%	0,018%	0,96%
1,4-diossano	0,012%	1,9%	0,025%	1,7%
Toluene	0,0073%	0,81%	0,029%	0,80%
Clorobenzene	0,0061%	0,69%	0,024%	0,69%
Etilbenzene	0,0060%	0,84%	0,016%	0,86%
m-xilene	0,0061%	0,82%	0,017%	0,82%
p-xilene	Coeluisce con *m*-xilene	Coeluisce con *m*-xilene	0,015%	0,83%
o-xilene	0,0059%	0,81%	0,026%	0,81%

Tabella 5. Precisione del tempo di ritenzione e ripetibilità dell'area per composti di classe 2B valutati con lo splitter dell'iniettore sul sistema GC Agilent Intuvo 9000.

Composto	RSD RT (%) su Agilent DB-624	RSD area (%) su Agilent DB-624	RSD RT (%) su Agilent DB-WAX	RSD area (%) su Agilent DB-WAX
Esano	0,021%	4,4%	0,039%	4,5%
Nitrometano	0,42%	4,9%	0,018%	2,5%
Cloroformio	0,0099%	4,8%	0,026%	3,2%
1,2-dimetossietano	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-esanone	0,0081%	2,7%	0,020%	0,74%
Tetralina	0,0078%	2,1%	0,016%	2,1%

L'analisi con doppia colonna eseguita con il campionatore per spazio di testa 7697A e il sistema GC Intuvo 9000 ha fornito anche eccellenti prestazioni cromatografiche e ha dimostrato i vantaggi associati all'utilizzo simultaneo di entrambe le colonne. Il tetracloruro di carbonio, solvente di classe 1, presenta un valore del rapporto segnale-rumore adeguato a soddisfare i requisiti della USP <467> (Figura 1). Sia la colonna DB-624 Select UI sia la colonna DB-WAX UI evidenziano un'eccellente simmetria del picco e risposte simili. La separazione tra 1,1,1-tricloroetano e tetracloruro di carbonio sulla colonna DB-624 Select UI e l'assenza di separazione sulla colonna DB-WAX UI (Figura 2) esemplificano l'utilità di eseguire la valutazione su entrambe le colonne simultaneamente.

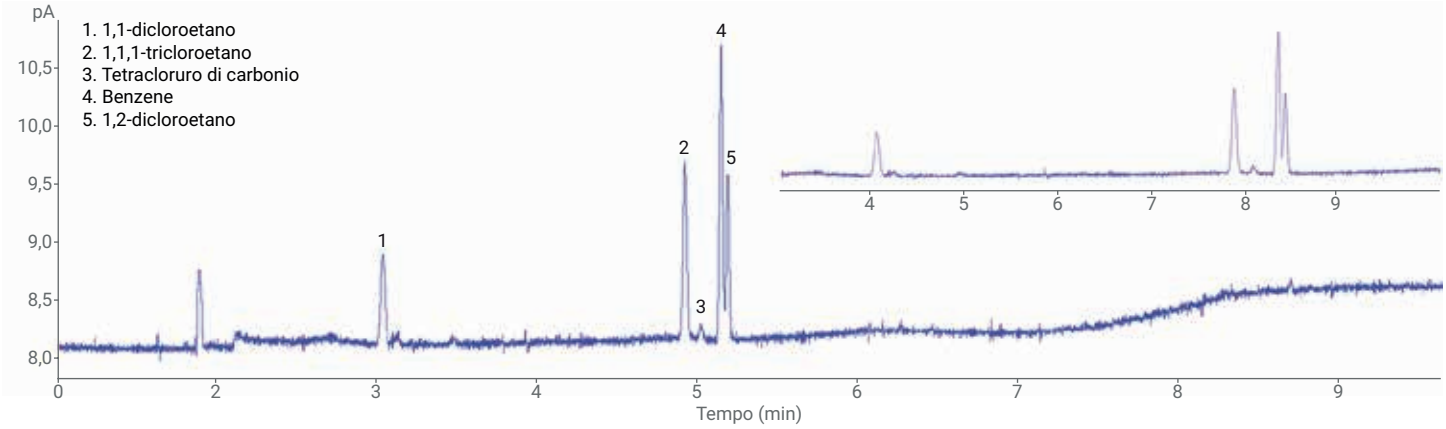


Figura 1. L'analisi di solventi residui di classe 1 su una colonna Agilent DB-624 Select UI evidenzia eccellenti risultati cromatografici e soddisfa i requisiti del rapporto segnale-rumore per tutti i solventi, tetracloruro di carbonio incluso.

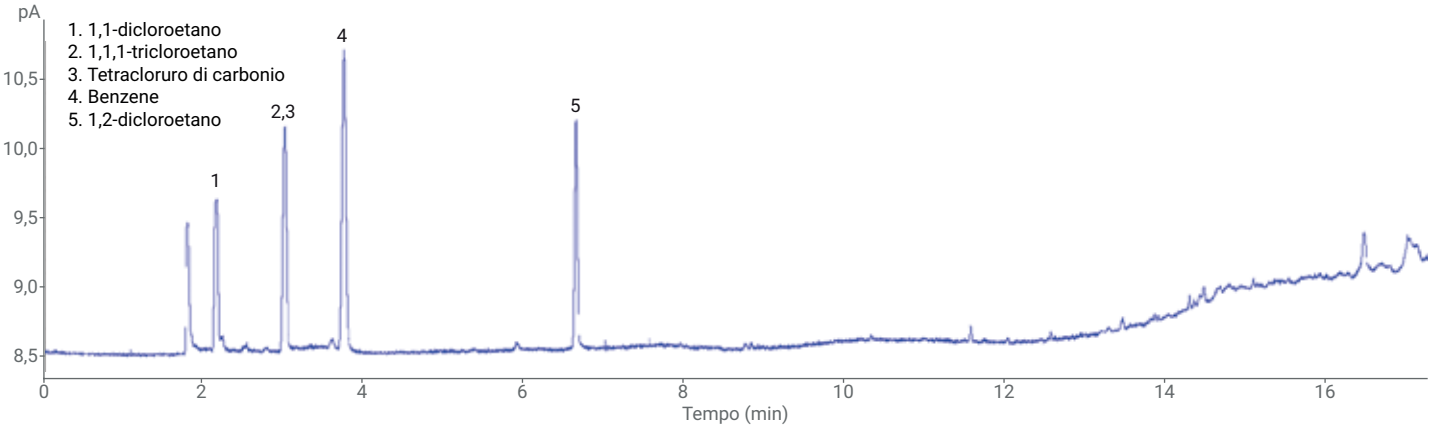


Figura 2. L'analisi di composti di classe 1 su colonna Agilent DB-WAX UI produce lo stesso ordine di eluizione ottenuto su una colonna Agilent DB-624 Select UI ma, come era da attendersi, con uno spostamento dei tempi di ritenzione.

La simmetria del picco è risultata eccellente anche per l'analisi dei solventi di classe 2A. Sono state osservate variazioni significative nell'ordine di eluizione tra le colonne DB-624 Select UI e DB-WAX UI, come era da attendersi in considerazione dell'uso di fasi stazionarie diverse (Figura 3 e 4). Al contrario del caso dei solventi di classe 1, per i quali la colonna DB-624 Select UI ha fornito una risoluzione migliore per gli analiti critici (tetracloruro di carbonio), la colonna DB-WAX UI ha permesso di risolvere meglio gli isomeri dello xilene appartenenti alla classe 2A, evidenziando un ulteriore vantaggio derivante dall'uso simultaneo di entrambe le colonne.

La colonna DB-624 Select UI, che offre prestazioni migliori per la classe 1, e la colonna DB-WAX UI, che offre prestazioni migliori per la classe 2A, possono essere impiegate su un unico sistema, ottenendo così analisi cromatografiche ottimali per entrambe le classi.

L'ultimo esempio dei vantaggi associati all'uso di un set di due colonne per l'analisi di solventi residui secondo il metodo USP <467> riguarda la classe 2B. Il nitrometano genera una bassa risposta e un picco di forma non simmetrica sulla colonna DB-624 Select UI (Figura 5, picco 2). Sulla colonna DB-WAX UI, invece, la forma del picco e la risposta sono migliori (Figura 6). Questo miglioramento si riflette anche nel miglioramento del valore RSD dell'area per il nitrometano nel passaggio dalla colonna DB-624 Select UI a quella DB-WAX UI.

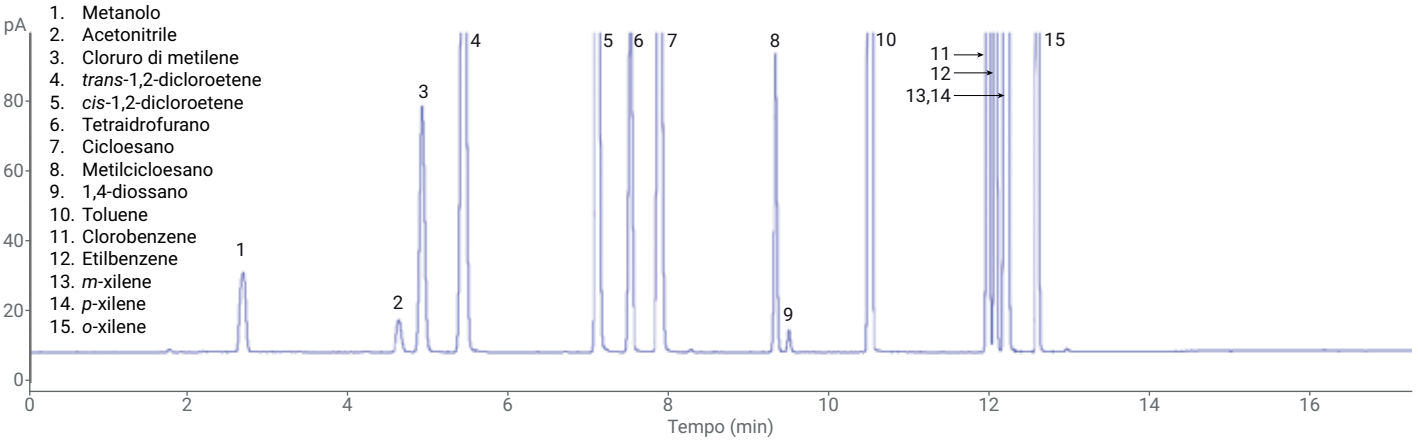


Figura 3. L'analisi di solventi di classe 2A su una colonna Agilent DB-624 Select UI presenta un'eccellente forma dei picchi.

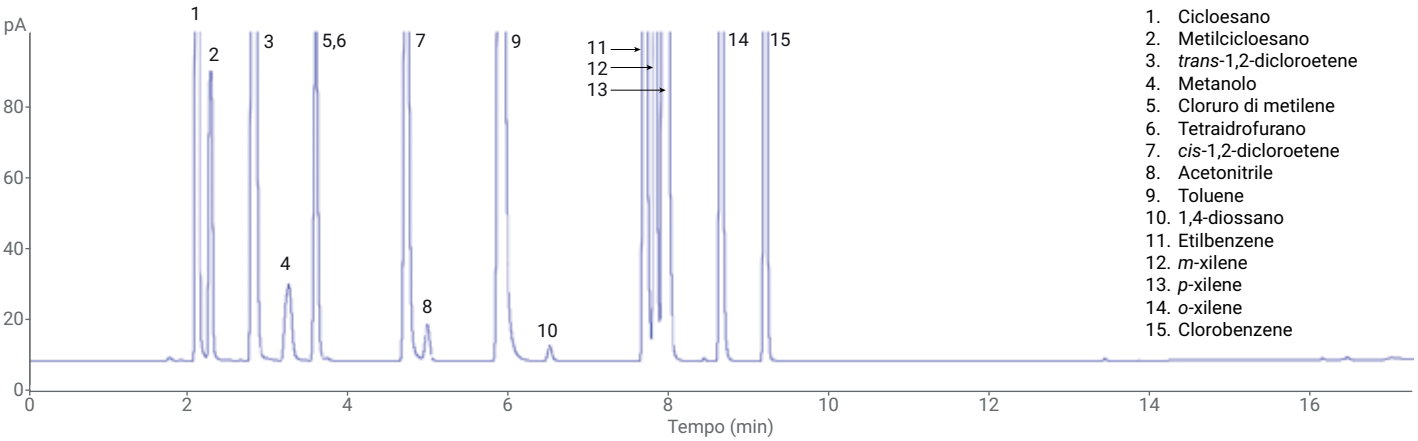


Figura 4. L'analisi di solventi di classe 2A su una colonna Agilent DB-WAX UI evidenzia variazioni nell'ordine di eluizione.

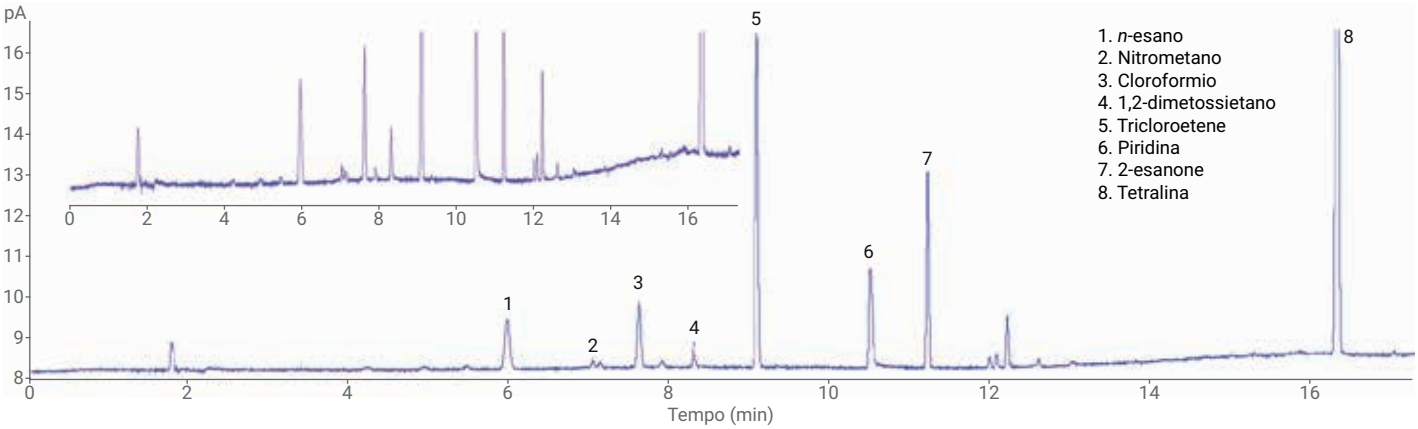


Figura 5. L'analisi di solventi residui di classe 2B su una colonna Agilent DB-624 Select UI evidenzia un'eccellente forma dei picchi su un ampio intervallo di risposte.

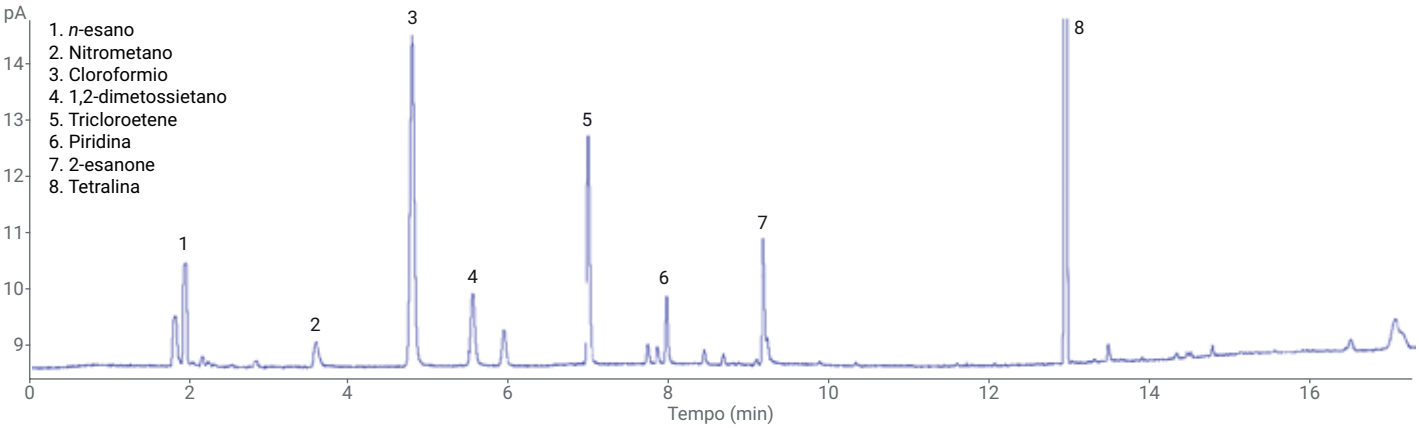


Figura 6. L'analisi di solventi residui di classe 2B su una colonna Agilent DB-WAX UI presenta una forma del picco migliore per il nitrometano.

Conclusioni

Il sistema GC Agilent Intuvo 9000 equipaggiato con il campionatore per spazio di testa Agilent 7697A nella configurazione con doppia colonna e doppio rivelatore a ionizzazione di fiamma (FID) assicura un'eccellente ripetibilità. I risultati ottenuti con questo sistema sono in accordo con quelli pubblicati in precedenza per il metodo USP <467> su sistemi GC convenzionali a singola colonna[2,3]. La precisione dell'area per nove vial per spazio di testa è risultata pari o inferiore a 5% mentre la ripetibilità del tempo di ritenzione presentava valori pari o inferiori a 0,2%.

La valutazione dei solventi residui secondo il metodo USP <467> con un set di due colonne offre anche altri vantaggi. Mentre le colonne Agilent DB-624 Select UI hanno permesso di ottenere la migliore risoluzione per i solventi residui di classe 1, gli isomeri dello xilene appartenenti alla classe 2A sono stati completamente risolti sulle colonne Agilent DB-WAX UI. Configurando un sistema GC Intuvo 9000 con uno splitter dell'iniettore è possibile impiegare simultaneamente entrambe le colonne, avvalendosi quindi dei vantaggi di natura cromatografica resi possibili dall'uso di due fasi stazionarie. Questa configurazione elimina la necessità di acquisire i campioni su due sistemi con due diverse colonne e offre quindi la possibilità di dimezzare il tempo di analisi.

Il campionatore per spazio di testa 7697A abbinato al sistema GC Intuvo 9000 configurato con uno splitter dell'iniettore per l'analisi con doppia colonna e doppio FID è una soluzione efficace e immediata per l'analisi dei solventi residui secondo il metodo USP <467>, il tutto riducendo il tempo di analisi.

Bibliografia

1. USP 40, capitolo generale <467> della United States Pharmacopoeia sui solventi residui, https://hmc.usp.org/sites/default/files/documents/HMC/GCs-Pdfs/c467.pdf (accesso a ottobre 2017).
2. Firor, R. L. Analysis of USP <467> residual solvents with improved repeatability using the Agilent 7697A Headspace Sampler, *Nota applicativa Agilent Technologies*, 5990-7625EN, agosto **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, *Nota applicativa Agilent Technologies*, 5991-1834EN, gennaio **2013**.

www.agilent.com/chem/intuvo

Le informazioni fornite possono variare senza preavviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2018

Pubblicato negli Stati Uniti, 23 febbraio 2018
5991-9029ITE

Agilent
Trusted Answers