# Validación de la Técnica de Cuantificación de Impurezas Orgánicas Volátiles Clase I Mediante Cromatografía Gaseosa Head Space

# Validation of the Quantitation Technique of Class I Volatile Organic Impurities by Head-Space Gaseous Chromatography

M Carmona[1], C Maturana[2].
*Sección Fisicoquímicos[1] y Alumno Tesista Química y Farmacia[2]*
*Subdepto. Laboratorio Nacional de Control - ANAMED.*
*Instituto de Salud Pública de Chile – Santiago - Chile*

**Introducción:**

Dada la entrada en vigencia del requerimiento para la determinación de disolventes residuales en algunas monografías farmacopéicas específicas y el progresivo aumento de denuncias a la calidad por formulaciones orales con “mal olor”, se generó la necesidad de implementar las técnicas para identificar y cuantificar las impurezas orgánicas volátiles ó disolventes residuales, a través de cromatografía gaseosa. Debido a que los métodos y requerimientos para las 3 clases de disolventes residuales con importancia farmacéutica, son muy heterogéneos, se planificó comenzar por los más tóxicos y que deben evitarse en los procesos productivos como los de la Clase I, para luego proseguir con las otras 2 clasificaciones.

**Objetivo:**

Instalar y validar técnicas cuantitativa y una cualitativa para la determinación de 5 compuestos (Tetracloruro de carbono (TCC), Benceno, 1,1-Dicloroetano (DCENO), 1,1,1-Tricloroetano (TCE) y 1,2-Dicloroetano (DCE) de conocida toxicidad para el ser humano y para el medio ambiente.

**Metodología:**

Como metodología analítica se utilizó cromatografía gaseosa Head-Space con detector FID y se instaló la metodología analítica de USP 32 <467>.

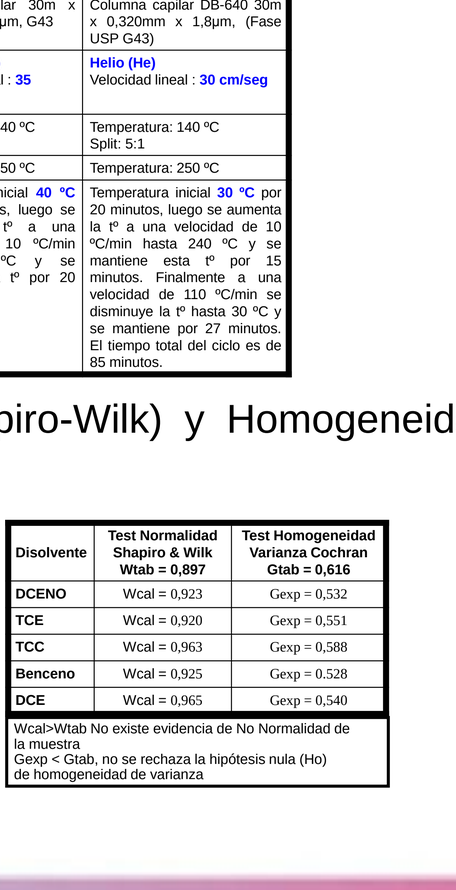


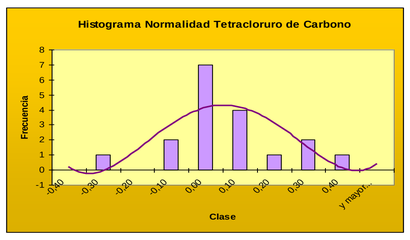

Fig. 1: Diagrama identificación y cuantificación de disolventes residuales.

## Resultado:

Instalación metodología A y C:

| Parámetro | USP | Ajuste |
|---|---|---|
| Columna capilar | Columna capilar 30m x 0,320mm x 1,8µm, G43 | Columna capilar DB-640 30m x 0,320mm x 1,8µm, (Fase USP G43) |
| Gas portador | **Nitrógeno ($N_2$)** Velocidad lineal : **35 cm/seg** | **Helio (He)** Velocidad lineal : **30 cm/seg** |
| Inyector | Temperatura: 140 ºC Split: 5:1 | Temperatura: 140 ºC Split: 5:1 |
| Detector FID | Temperatura: 250 ºC | Temperatura: 250 ºC |
| Programa de temperatura | Temperatura inicial **40 ºC** por 20 minutos, luego se aumenta la tº a una velocidad de 10 ºC/min hasta 240 ºC y se mantiene esta tº por 20 minutos. | Temperatura inicial **30 ºC** por 20 minutos, luego se aumenta la tº a una velocidad de 10 ºC/min hasta 240 ºC y se mantiene esta tº por 15 minutos. Finalmente a una velocidad de 110 ºC/min se disminuye la tº hasta 30 ºC y se mantiene por 27 minutos. El tiempo total del ciclo es de 85 minutos. |

Prueba normalidad (Shapiro-Wilk) y Homogeneidad de varianza (Cochran).




| Disolvente | Test Normalidad Shapiro & Wilk Wtab = 0,897 | Test Homogeneidad Varianza Cochran Gtab = 0,616 |
|---|---|---|
| **DCENO** | Wcal = 0,923 | Gexp = 0,532 |
| **TCE** | Wcal = 0,920 | Gexp = 0,551 |
| **TCC** | Wcal = 0,963 | Gexp = 0,588 |
| **Benceno** | Wcal = 0,925 | Gexp = 0.528 |
| **DCE** | Wcal = 0,965 | Gexp = 0,540 |

Wcal>Wtab No existe evidencia de No Normalidad de la muestra
Gexp < Gtab, no se rechaza la hipótesis nula (Ho) de homogeneidad de varianza

Validación:

Especificidad; Linealidad r = 0.997, $t_{exp.} > t_{tabla}$ (2.77); Precisión Repetibilidad CV < a lo establecido por ec. Horwitz; Precisión Intermedia CV < a lo establecido por ec. Horwitz, $F_{calculado} \leq 2.106$, $t_{exp} < t_{tabla}$ (2.77); Exactitud entre 50 – 150 %; LD entre 0.0199-0.0937 ppm y LC entre 0.066 – 0.312 ppm.

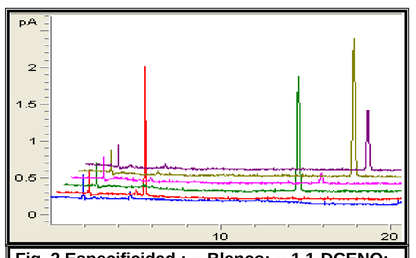



**Fig. 2 Especificidad : -- Blanco; -- 1,1-DCENO; -- 1,1,1-TCE; -- TCC; -- Benceno; -- 1,2-DCE**

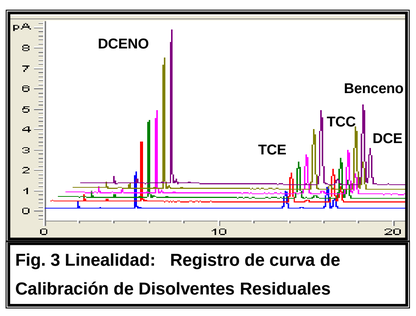
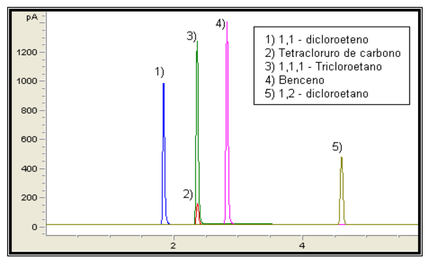
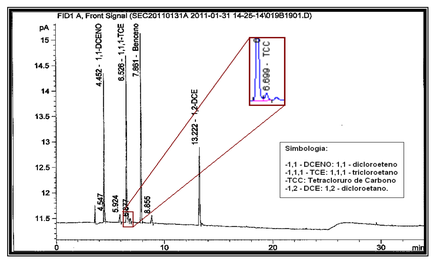



**Fig. 3 Linealidad: Registro de curva de Calibración de Disolventes Residuales**

Instalación metodología B:

| Parámetro | USP | Ajuste |
|---|---|---|
| Columna capilar mixta | **Columna capilar 30m x 0,320mm x 0,25µm, Fase USP G16** | La primera parte corresponde a **una Columna capilar DB-WAX 30m x 0,320mm x 0,25µm, Fase USP G16, unida por un conector de tiempo muerto y férrulas apropiadas a una Columna capilar HP-5 30m x 0,320mm x 0,25µm,** Fase USP G27. |
| Gas portador | **Nitrógeno ($N_2$)** Velocidad lineal : **35 cm/seg** | **Helio (He)** Velocidad lineal : **30 cm/seg** |
| Inyector | Temperatura : 140ºC Split : 5:1 | Temperatura : 140ºC Split : 5:1 |
| Detector FID | Temperatura : 250 ºC | Temperatura : 250 ºC |
| Programa de temperatura | Tº inicial **50 ºC por 20 minutos**, luego se aumenta la tº a una velocidad de **6 ºC/min** hasta 165 ºC y se mantiene esta tº por 20 minutos. | Temperatura inicial **35 ºC por 25 minutos**, luego se aumenta la tº a una velocidad de **10 ºC/min** hasta 165 ºC y se mantiene esta tº por 20 minutos. Finalmente a una velocidad de 110 ºC/min se disminuye la tº hasta 35 ºC y se mantiene por 10 minutos con el fin de estabilizar la tº para la siguiente inyección. El tiempo total del ciclo es de 70 minutos. |




## Conclusiones:

Con la validación de estas técnicas el Subdepto. Laboratorio Nacional de Control se encuentra en condiciones de iniciar el control de calidad para la determinación de solventes residuales en las muestras de su que hacer (Muestras Legales; Control de Serie y Control de Calidad de Medicamentos Comercializados).