

Agilent 8890 GC 시스템을 이용한 USP Method <467> 잔류 용매 분석

저자

Lukas Wieder, Jie Pan,
Rebecca Veeneman
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road,
Wilmington DE 19808

개요

본 응용 자료는 Agilent 8890 GC, 467용 Agilent J&W DB-Select 624 UI 및 Agilent J&W HP-INNOWax 컬럼을 이용한 <467> 잔류 용매의 검출 및 확인을 중점으로 다룹니다. 이 시스템은 USP Method <467>의 모든 사양을 충족하며, 여러 번 주입으로 탁월한 반복성을 보여줍니다.

서론

Class 1과 class 2 잔류 용매는 반드시 모니터링 및 규제하여야 하며, 이러한 용매의 분석법은 다음과 같은 세 가지 절차를 포함합니다.

- **절차 A:** G43 상 컬럼(이 경우, 467용 Agilent J&W DB-Select 624 UI)을 이용한 초기 식별 및 한계 테스트
- **절차 B:** 절차 A의 한계 이상인 경우, G16 상 컬럼(이 경우, Agilent J&W HP-INNOWax)을 이용한 피크 식별 확인 및 이차 한계 테스트 수행
- **절차 C:** 절차 A 및 B의 한계 이상인 경우, 화합물 동시 용리가 적은 컬럼을 이용한 정량 수행

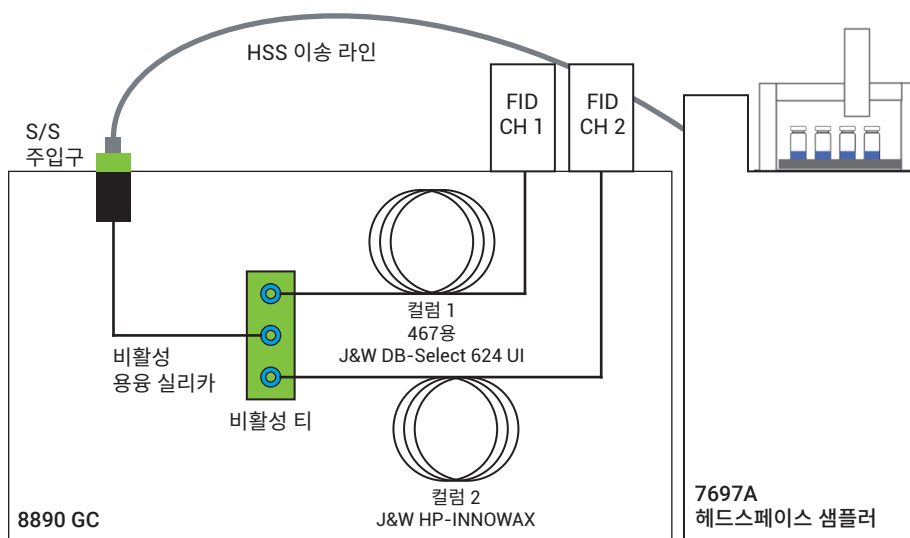


그림 1. USP <467> 잔류 용매 분석을 위한 이중 컬럼 및 이중 FID를 이용한 시험 설정

이 응용 자료는 Agilent 8890 GC를 이용하여 USP Method <467>의 잔류 용매를 분석했습니다. 본 분석은 467용 J&W DB-Select 624 UI 및 J&W HP-INNOWax 컬럼을 사용하였으며, 이중 불꽃 이온화 검출기(FID)로 구성하였습니다. 따라서, 단일 주입으로 절차 A 및 B를 동시 실행할 수 있습니다.

시험

장비

8890 GC는 분할/비분할 주입구(SSL) 및 이중 FID로 구성하였으며, Agilent 7697A 헤드스페이스 샘플러로 샘플링을 수행하였습니다. 비활성 티는 FID에 바로 연결되는 두 컬럼의 흐름을 동일하게 분할하는 데 사용하였습니다. 그림 1은 전체 구성입니다.

화학물질 및 시약

Dimethyl sulfoxide(99.9%)와 물(HPLC 등급)은 Sigma-Aldrich에서 구매했습니다.

소모품

표 1. 소모품 및 품목 번호

소모품	설명
바이알	10mL Clear crimp top headspace vials(p/n 5190-2285)
셉타	Advanced Green nonstick inlet septa(p/n 5183-4759-100)
Splitter	Inert tee for capillary flow technology(p/n G3184-60065)
페룰	Short graphite for 0.1 to 0.32mm columns, 10/pk(p/n 5080-8853) UltiMetal Plus flexible metal, for 0.32mm fused silica tubing, 10/pk(p/n G3188-27502)
주입구 라이너	2mm, Splitless, straight, deactivated (p/n 5181-8818)
헤드스페이스 전달 line/pre-CFT 컬럼	Deactivated Fused Silica, 30m×0.25mm id×0.35 mm od(p/n 160-2255-30)
컬럼 1	J&W DB-Select 624 UI for 467, 30m×0.32mm, 1.8µm(p/n 123-0334UI)
컬럼 2	J&W HP-INNOWax, 30m×0.32mm, 0.25µm(p/n 19091N-113I)

시료 전처리

잔류 용매 시료 전처리는 USP <467> 프로토콜에 따라 수행하였습니다.

다음의 DMSO 잔류 용매의 세 가지 원액을 사용하였습니다.

- Residual Solvent Revised Method <467> Class 1(p/n 5190-0490)
- Residual Solvent Revised Method <467> Class 2A(p/n 5190-0492)
- Residual Solvent Revised Method <467> Class 2B(p/n 5190-0491)

세 가지 class, 각각에 대한 시료 전처리 절차는 아래와 같습니다:

Class 1 용매

1. 원액 1mL와 DMSO 9mL를 바이알에 담고 물로 100mL 희석
2. 1단계 1mL를 물로 100mL 희석
3. 2단계 10mL를 물로 100mL 희석
4. 3단계 1mL와 물 5mL를 헤드스페이스 바이알에 담음

Class 2A 용매

1. 원액 1mL를 물로 100mL 희석
2. 1단계 1mL와 물 5mL를 헤드스페이스 바이알에 담음

Class 2B 용매

1. 원액 1mL를 물로 100mL 희석
2. 1단계 1mL와 물 5mL를 헤드스페이스 바이알에 담음

시험 파라미터

표 2. 잔류 용매 분석을 위한 시스템 파라미터

GC 시스템 파라미터	8890 GC
운반 가스	헬륨, 일정 유속 모드, 컬럼 1에서 2mL/분
주입구 유형	분할/비분할
주입구 온도	140°C
모드	분할 모드, 분할비 5:1
오븐	40°C(5분 유지), 18°C/분으로 180°C까지(3분 유지)
컬럼 1 유속	2mL/분, 일정 유속 모드, 컬럼 1로 컬럼 2 유속 제어
FID(두개 채널 모두)	250°C
공기	400mL/분
H ₂	30mL/분
보충 가스(N ₂)	25mL/분
헤드스페이스 파라미터	7697A 헤드스페이스 샘플러
시료 루프	1mL
오븐 온도	85°C
루프 온도	85°C
이송 라인 온도	100°C
바이알 평형 시간	40분
주입 시간	0.5분
바이알 크기	10mL
바이알 진탕	켜짐, 레벨 2(25회 진탕/분)
바이알 채우기 모드	기본: 압력으로 유속 제어
바이알 채우기 압력	15psi
루프 가압 속도	20psi/분
최종 루프 압력	0psi
루프 평형 시간	0.05분
소프트웨어	Agilent OpenLab CDS – Version 2.2

결과 및 토의

각 class 용매에 대해 두 컬럼 모두에서의 명확한 크로마토그래피와 여러 번 분석에서의 일관된 결과를 나타낼 뿐 아니라, USP <467> 요건을 만족해야만 합니다.

그림 2~7은 467용 J&W DB-Select 624 UI 및 J&W HP-INNOWax GC 컬럼에 대한 class 1, 2A, 2B 잔류 용매 혼합물의 분석 결과입니다. 467용 J&W DB-Select 624 UI와 J&W HP-INNOWax 컬럼 모두에서 class 1 용매 분석은 신호 대 잡음비(S/N) 및 분리능 요건을 충족하였습니다.

헤드스페이스 바이알 10개, 한 세트로 면적 및 머무름 시간 반복성 측정(RSD%)을 평가했습니다. 표 3~5는 467용 J&W DB-Select 624 UI 및 J&W HP-INNOWax 컬럼으로 얻은 class 1, 2A, 2B 잔류 용매 혼합물의 RSD%입니다. 그 결과, RSD% 값은 5.0% 미만으로 이는 7697A 헤드스페이스 샘플러와 8890 GC/FID 시스템의 높은 반복성 및 컬럼의 안정성을 나타냅니다.

Class 1 용매

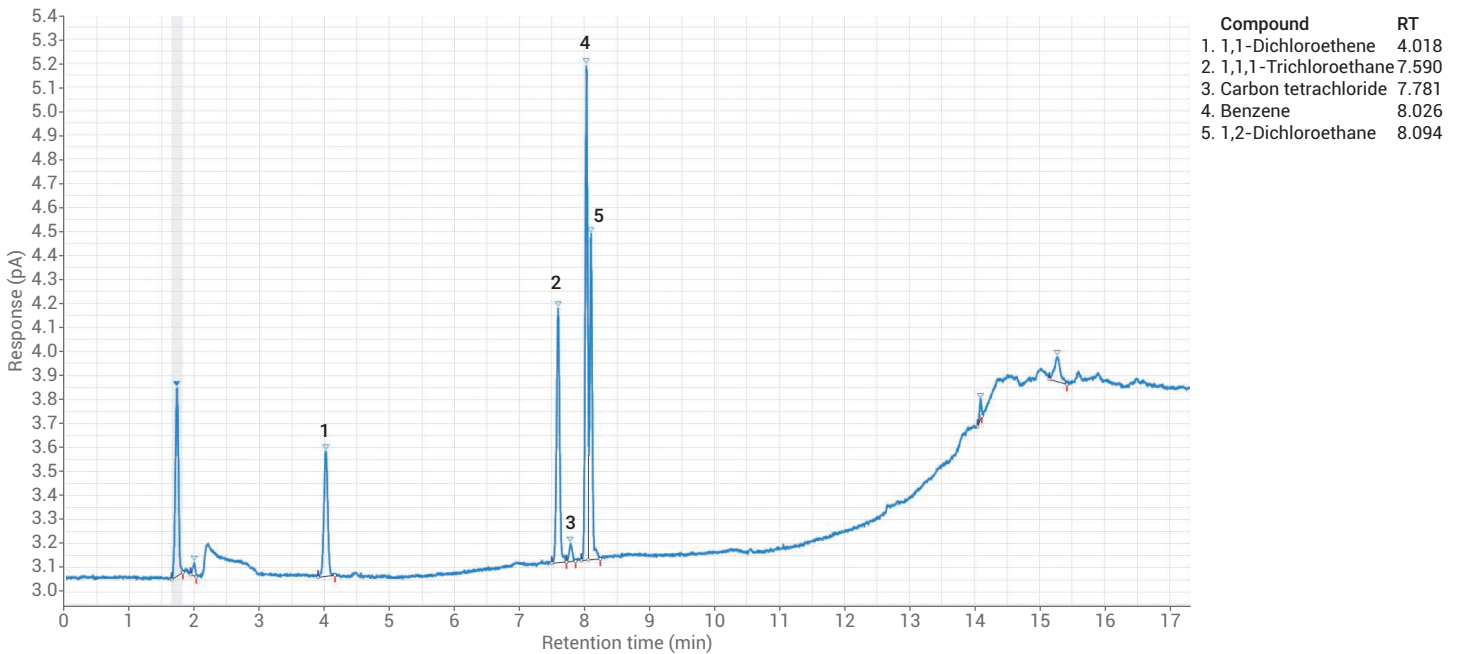
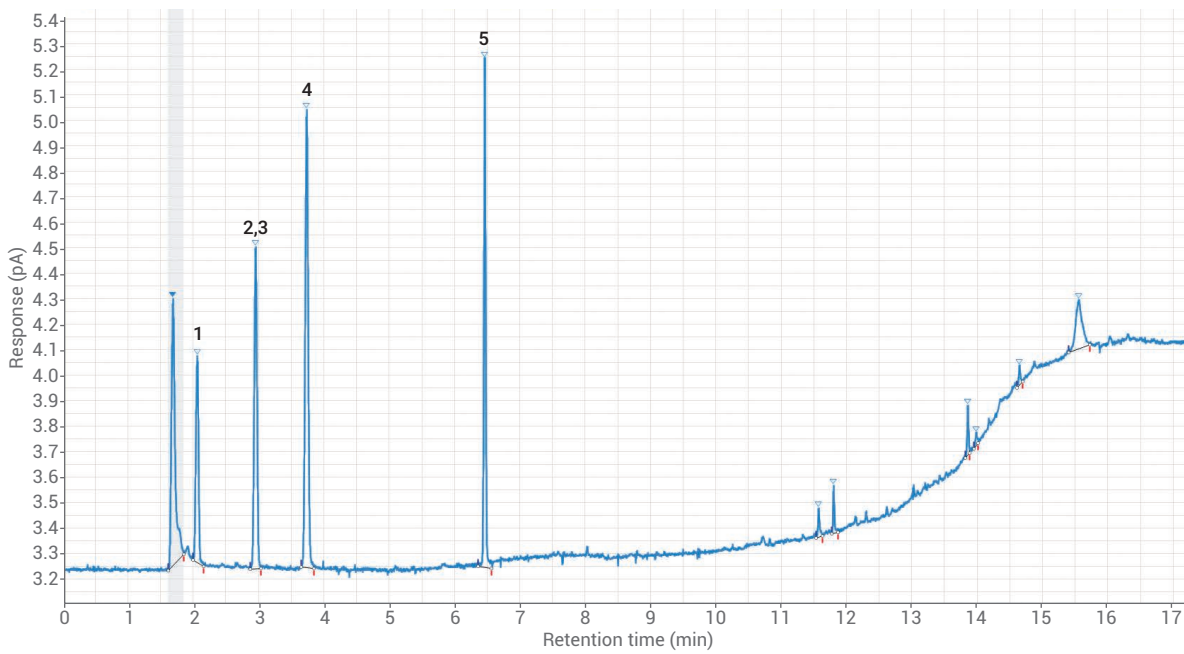


그림 2. 467 GC 컬럼 용 J&W DB-Select 624 UI으로 분리한 USP 잔류 용매 class 1 표준 용액 크로마토그램



Compound	RT
1. 1,1-Dichloroethene	2.058
2. 1,1,1-Trichloroethane	2.952
3. Carbon tetrachloride	2.952
4. Benzene	3.734
5. 1,2-Dichloroethane	6.458

그림 3. J&W HP-INNOWax 컬럼으로 분리한 USP 잔류 용매 class 1 표준 용액 크로마토그램

표 3. 467용 J&W DB-Select 624 UI와 J&W HP-INNOWax 컬럼으로 얻은 class 1 잔류 용매 반복성(n=10)

화합물	467용 J&W DB-Select 624 UI의 면적 RSD(%)	467용 J&W DB-Select 624 UI의 RT RSD(%)	J&W HP-INNOWax의 면적 RSD(%)	J&W HP-INNOWax의 RT RSD(%)
1,1-Dichloroethene	2.8	0.31	4.2	0.092
1,1,1-Trichloroethane	3.7	1.4	3.61	0.057
Carbon tetrachloride	2.9	0.060	1,1,1-trichloroethane과 동시 용리	1,1,1-trichloroethane과 동시 용리
Benzene	3.6	0.0050	4.9	0.021
1,2-Dichloroethane	3.2	0.059	3.2	0.018

Class 2A 용매

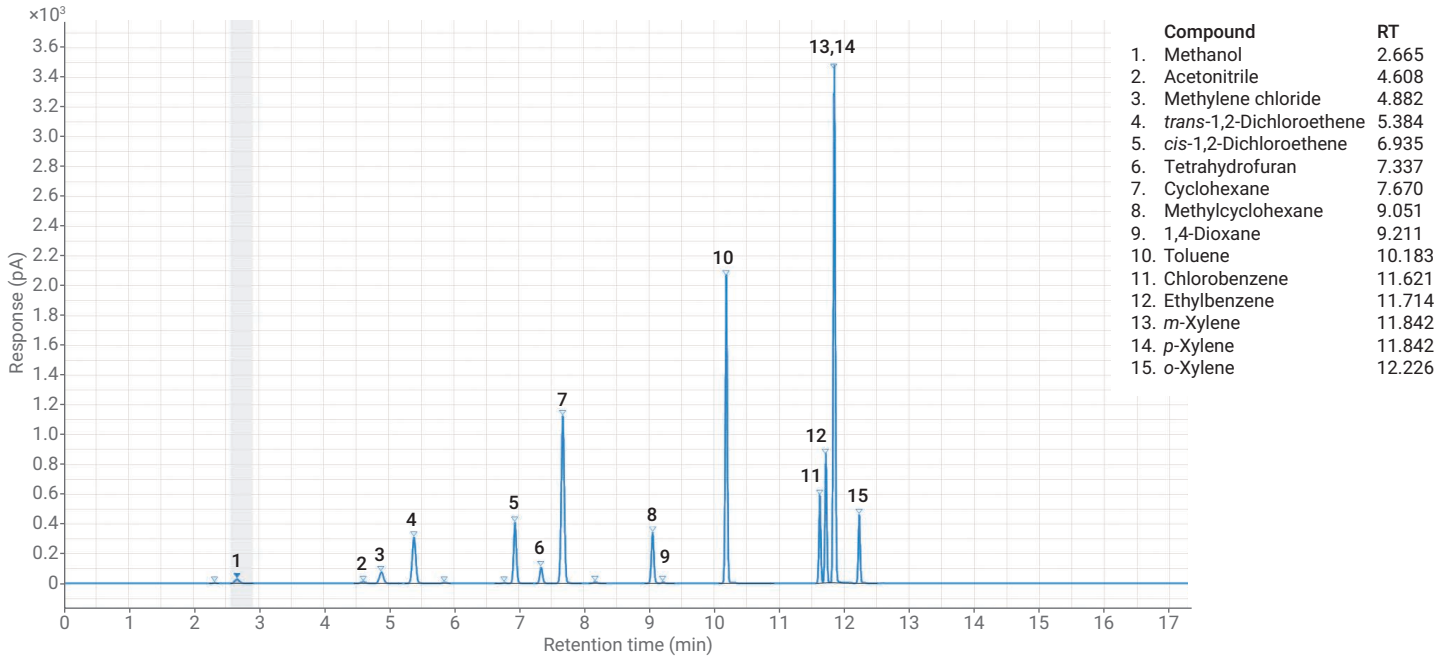


그림 4. 467 GC 컬럼 용 J&W DB-Select 624 UI로 분리한 USP 잔류 용매 class 2A 표준 용액 크로마토그램

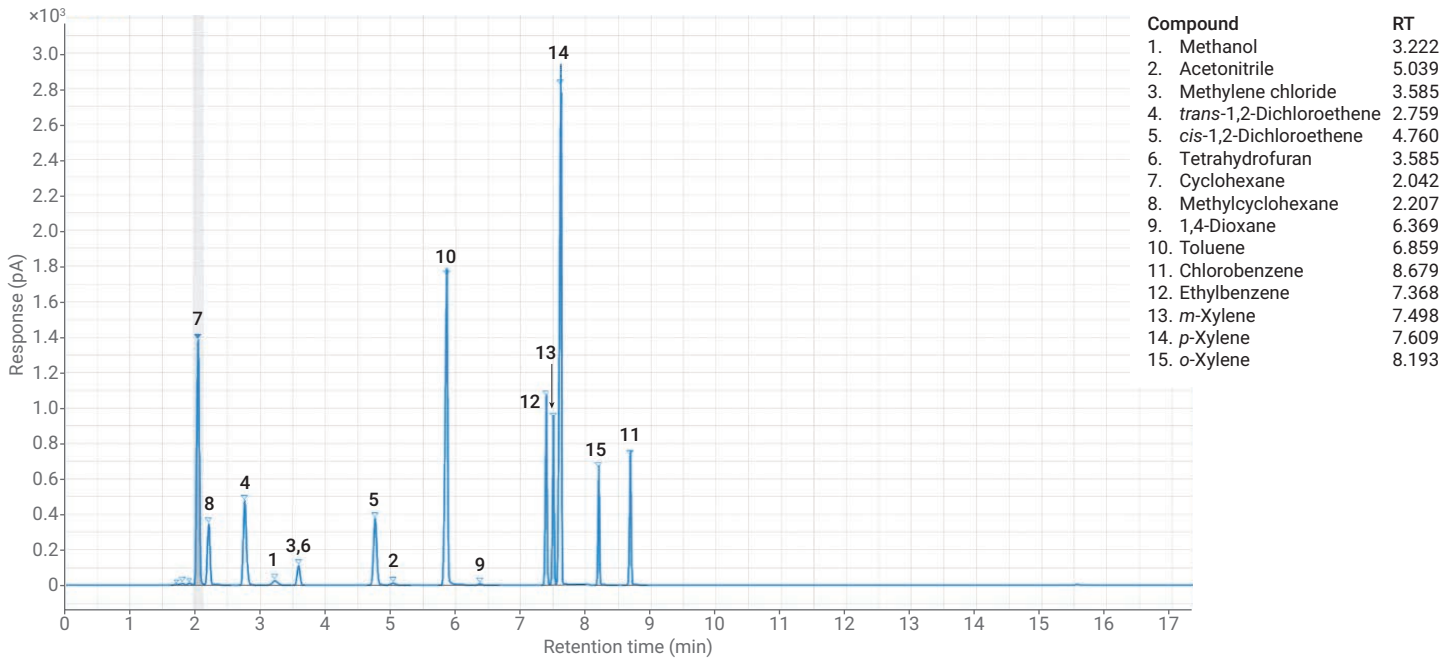


그림 5. J&W HP-INNOWax 컬럼으로 분리한 USP 잔류 용매 class 2A 표준 용액 크로마토그램

표 4. 467용 J&W DB-Select 624 UI와 J&W HP-INNOWax 컬럼으로 얻은 class 2A 잔류 용매 반복성(n=10)

화합물	467용 J&W DB-Select 624 UI의 면적 RSD(%)	467용 J&W DB-Select 624 UI의 RT RSD(%)	J&W HP-INNOWax의 면적 RSD(%)	J&W HP-INNOWax의 RT RSD(%)
Methanol	1.9	0.36	2.0	0.41
Acetonitrile	1.6	0.078	2.4	0.034
Methylene chloride	3.8	0.029	4.1	0.034
<i>trans</i> -1,2-Dichloroethene	4.9	0.031	4.5	0.039
<i>cis</i> -1,2-Dichloroethene	4.3	0.0092	4.3	0.039
Tetrahydrofuran	2.3	0.029	Methylene chloride와 동시 용리	Methylene chloride와 동시 용리
Cyclohexane	4.1	0.0091	4.2	0.045
Methylcyclohexane	4.5	0.0059	4.5	0.046
1,4-Dioxane	1.7	0.012	2.4	0.039
Toluene	4.4	0.0053	4.3	0.034
Chlorobenzene	4.1	0.0055	4.1	0.32
Ethylbenzene	4.4	0.0057	4.5	0.04
<i>m</i> -Xylene	4.4	0.0056	4.7	0.026
<i>p</i> -Xylene	<i>m</i> -xylene과 동시 용리	<i>m</i> -xylene과 동시 용리	4.4	0.016
<i>o</i> -Xylene	4.1	0.0054	4.1	0.31

Class 2B 용매

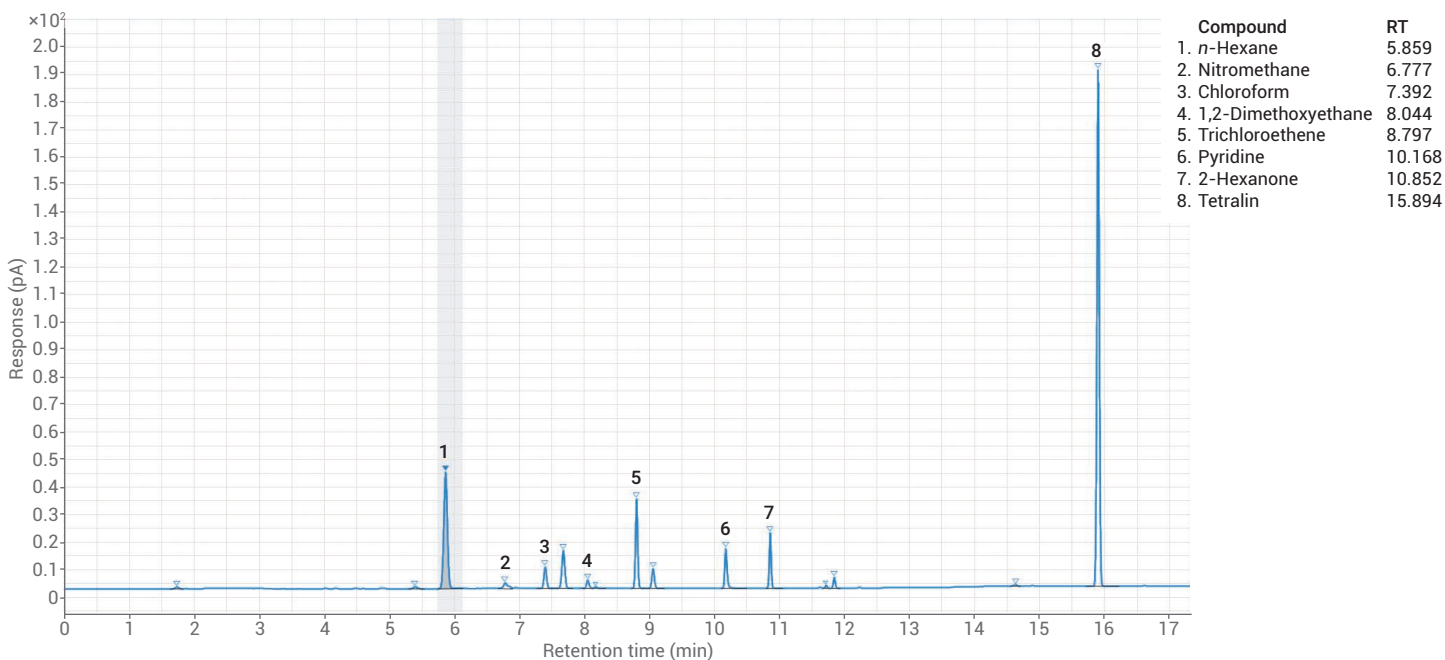


그림 6. 467 GC 컬럼 용 J&W DB-Select 624 UI으로 분리한 USP 잔류 용매 class 2B 표준 용액 크로마토그램

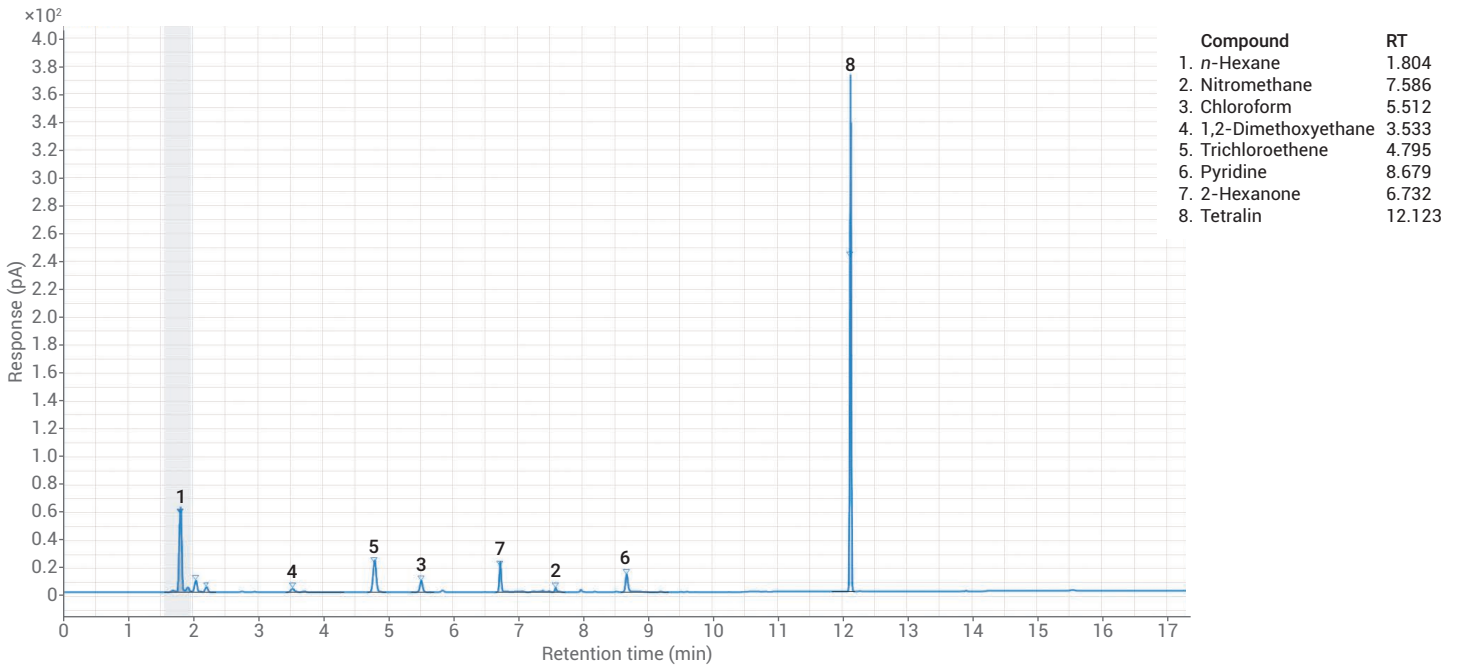


그림 7. J&W HP-INNOWax 컬럼으로 분리한 USP 잔류 용매 class 2B 표준 용액 크로마토그램

결론

7697A 헤드스페이스 샘플러와 비활성 티를 갖춘 8890 GC 시스템은 USP <467>에서 설명하는 모든 관련 잔류 용매를 분리, 식별 및 정량하는 탁월한 분석법을 제공합니다. 동시 용리는 예상보다 적고, 모든 세 가지 class의 피크는 각각 잘 분리되었으며, 충분한 신호 대 잡음비와 반복적인 정량이 가능했습니다.

참고 문헌

1. USP 32-NF 27, General Chapter USP <467> Organic volatile impurities, United States Pharmacopeia. Pharmacopoeia Convention Inc., Rockville, MD, USA.

표 5. 467용 J&W DB-Select 624 UI와 J&W HP-INNOWax 컬럼으로 얻은 class 2B 잔류 용매 반복성(n=10)

화합물	467용 J&W DB-Select 624 UI의 면적 RSD(%)	467용 J&W DB-Select 624 UI의 RT RSD(%)	J&W HP-INNOWax의 면적 RSD(%)	J&W HP-INNOWax의 RT RSD(%)
<i>n</i> -Hexane	1.5	0.052	2.9	0.17
Nitromethane	1.8	0.031	1.8	0.014
Chloroform	4.4	0.0081	4.4	0.014
1,2-Dimethoxyethane	1.9	0.031	2.1	0.086
Trichloroethene	4.7	0.0061	4.9	0.0019
Pyridine	3.3	0.015	3.2	0.085
2-Hexanone	2.8	0.0077	2.8	0.015
Tetralin	3.7	0.0052	3.8	0.085

www.agilent.com/chem

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2018
2019년 5월 16일, 한국에서 인쇄
5994-0442KO

서울시 용산구 한남대로 98, 일신빌딩 4층 우)04418
한국애질런트테크놀로지스(주) 생명과학/화학분석 사업부
고객지원센터 080-004-5090 www.agilent.co.kr