

8697 헤드스페이스 샘플러와 Agilent Intuvo 9000 GC를 이용한 잔류용매 분석



저자

Ian Eisele
Agilent Technologies, Inc.

개요

미국 약전(USP) <467>에 따라 Agilent Intuvo 9000 가스 크로마토그래프(GC)와 Agilent 8697 헤드스페이스 샘플러를 이용하여 잔류용매 분석을 수행하였습니다. Intuvo 9000 GC에는 듀얼 컬럼과 두 번째 FID 용 D2 액세스서를 이용하는 듀얼 불꽃 이온화 검출기 (FID)를 장착하였습니다.

서론

잔류용매 분석은 제약 산업에서 중요한 응용 중 하나입니다. 이러한 휘발성 유기 화합물의 사용은 일반적으로 의약품 생산에 있어 필수입니다. 그러나 완제품에는 존재하지 않아야 합니다. USP <467>은 이러한 잔류용매의 허용치를 규정하고 이를 세 가지 범주로 분류하여 그 분석 절차를 제공합니다. USP <467>의 절차 A와 B에 명시된 분석법에서는 각각의 고유한 컬럼 고정상을 사용합니다. 두 가지 절차로 Class 1과 Class 2 용매 모두를 분리할 수 있으며, 농도 제한 테스트도 적용할 수 있습니다.

2019, 20년의 USP <467> 임시 개정안 발표에 따라, methylisobutylketone(MIBK)은 Class 2A 용매 목록에 추가되었습니다. MIBK는 지금의 절차 B에 대한 분리능 요건에도 사용됩니다.¹ 마찬가지로, ICH Q3C(R8)에 따라 두 가지 용매를 USP <467> Class 2 목록에도 추가할 것이 권장되었습니다.² 두 가지 새로운 용매인 cyclopentyl methyl ether(CPME)와 tert-butyl alcohol(TBA)은 아직은 USP <467>에 공식적으로 추가되지는 않았습니

실험

표준물질

Class 1(p/n 5190-0490), Class 2A (p/n 5190-0492) 및 Class 2B (p/n 5190-0513) 용매에 대한 잔류용매 표준물질을 애질런트에서 구입했습니다. 각 혼합물은 1L 병에 담긴 초순수 500mL에 한계 농도로 준비했습니다. MIBK, TBA 및 CPME는 각각의 한계 농도로 Class 2A 용액에 스파이킹했습니다. 또한, Cumene도 Class 2B 용매 혼합물에 없으므로 한계 농도로 Class 2B 용액에 스파이킹했습니다. Brand Dispensette를 사용하여 각각의 용액 6mL를 20mL 헤드스페이스 바이알에 분주했습니다. 그 후 바이알을 즉시 PTFE-lined 셉타 크림프 캡으로 밀봉했습니다.

분석법

USP <467>은 서로 다른 컬럼 고정상을 사용하여 Class 1 및 2 용매를 분리하는 두 가지 절차 A와 B를 기술하고 있습니다. 절차 A는 G43 고정상(Agilent DB-Select 624 UI)을 절차 B는 G16 고정상(Agilent DB-WAX UI)을 사용합니다. 두 절차 모두 하나의 듀얼 컬럼, 듀얼 FID 분석의 조합으로 진행됩니다. Agilent 8697 헤드스페이스 샘플러(HSS)의 이송 라인은 Agilent Intuvo 9000 GC의 주입구 셉텀에 직접 연결하였습니다. 주입구 스플리터 칩을

사용하면 주입구의 흐름을 두 개의 서로 다른 컬럼 간에 균등하게 분할할 수 있습니다. 이 두 컬럼은 두 개의 FID에 연결됩니다. 하나는 Intuvo 9000 상단에, 다른 하나는 D2 액세서리의 측면에 장착됩니다.

분석법 파라미터는 USP <467>의 가이드라인과 Agilent 7697A HSS로 이전에 발표된 작업을 기반으로 합니다(표 1).^{3,4} 8697 HSS는 Agilent 7697A HSS에서 확인할 수 있는 동일한 분석법 파라미터를 모두 제공하여 두 기기 간의 분석법 이전을 매우 간소화합니다. 8697 HSS와 7697A HSS 간에는 분석법 파라미터 뿐만 아니라, 시료 흐름 경로와 전반적인 샘플링 및 주입 기능 또한 동일합니다. 7697A HSS의 이전 작업에서 조정된 유일한 헤드스페이스 파라미터는 최종 루프 압력입니다. 이전 작업에서는 ‘기본 루프 채우기’가 아닌, ‘최종 루프 압력, 0psi’를 사용하여 궁극적으로 GC에 주입되는 시료를 줄였습니다. 최종 루프 압력이 0psi이면 분리능은 향상되지만, 루프 압력이 수동 역압 제어 모드로 실행되어 주입 정밀도는 떨어집니다. 최종 루프 압력을 4psi로 설정하면 분리능에 대한 영향은 거의 없이, 시료 루프 역압의 능동적인 제어로 주입 정밀도가 향상됩니다.⁵ GC 분석법 조건은 이전에 발표된 작업과 거의 동일하게 유지했습니다. 더 높은 분할 흐름, 10:1과 더 긴 초기 오븐 유지 시간, 5.5분만이 유일한 변화입니다.

표 1. Agilent 8697 헤드스페이스 샘플러 및 Agilent Intuvo 9000 GC의 기기 조건

파라미터	값
헤드스페이스	
오븐	85°C
루프	85°C
이송 라인 온도	100°C
이송 라인	용융 실리카, 530µm 내경
바이알 평형	40.00분
주입 시간	0.50분
바이알 진탕	레벨 2, 분당 25회 진탕
바이알 채우기 모드	기본 값
바이알 채우기 압력	15psi
바이알 가압 가스	질소
루프 채우기 모드	맞춤형, 20psi/분
루프 최종 압력	4psi
루프 평형 시간	0.05분
루프 볼륨	1.0mL
주입구(SSL)	
모드	분할
히터	140°C
운반 가스	헬륨
분할비	10:1
분할 유속	20mL/분
셉텀 퍼지	3mL/분
라이너	Ultra Inert, straight, 0.75 mm id(p/n 5190-4048)
셉텀	9mm 헤드스페이스(p/n 5183-4801)
점퍼 클립	140°C(p/n G4587-60575)
컬럼	
컬럼 1(절차 A)	Agilent DB-Select 624 UI, 30m×320µm, 1.8µm(p/n 123-0334UI-INT); 2mL/분, 일정 흐름
컬럼 2(절차 B)	Agilent DB-WAX UI, 30m×320µm, 0.25µm(p/n 123-7032UI-INT); 2mL/분, 일정 흐름
주입구 클립	Inlet splitter chip(p/n G4588-60601)
버스 온도	기본 값
오븐	40°C에서 5.5분 유지 15°C/분으로 180°C까지, 2.5분 유지
검출기(FID)	
히터	250°C
Air	400mL/분
H ₂	30mL/분
보충 가스	N ₂ , 25mL/분

결과 및 토의

Class 1 용매

Class 1 용매는 USP <467> 용매 중에서 허용치가 가장 낮습니다. 따라서, 시스템이 분석법의 신호 대 잡음비(S/N) 요건을 충족하는지 확인하는 것이 필수적입니다. USP <467>에서는 모든 Class 1 용매의 S/N는 두 절차 모두에서 3 이상이어야 합니다. 구체적으로 이 분석법은 S/N 요건으로 절차 A의 1,1,1-trichloroethane에 대해 5 이상, 절차 B의 benzene에 대해서도 5 이상을 요구합니다. Class 1 용매에 대한 S/N 요건은 그 이상으로 충족했으며 피크 면적과 머무름 시간 정밀도에서 탁월한 결과를 나타냈습니다(표 2, 그림 1).

표 2. 머무름 시간 및 피크 면적 정밀도(n=10). 동시 용리는 '해당 없음'으로 표기함.

화합물	절차 A	절차 A	절차 B	절차 B
	RT %RSD	면적 %RSD	RT %RSD	면적 %RSD
Class 1				
1,1,1-Trichloroethane	0.01	3.2	해당 없음	해당 없음
1,1-Dichloroethane	0.02	3.1	0.05	2.8
1,2-Dichloroethane	0.01	1.6	0.03	1.0
Benzene	0.01	1.3	0.03	1.6
Carbon tetrachloride	0.04	3.8	해당 없음	해당 없음
Class 2A				
1,4-Dioxane	0.01	1.7	0.03	1.6
Acetonitrile	0.02	1.6	0.04	1.7
Chlorobenzene	0.01	0.9	0.01	1.1
cis-1,2-Dichloroethene	0.01	1.0	0.04	0.8
Cyclohexane	0.01	1.5	0.03	1.5
Cyclopentyl methyl ether	해당 없음	해당 없음	0.04	1.0
Ethylbenzene	0.01	1.1	0.01	1.3
Methanol	0.09	1.4	0.04	1.3
Methylcyclohexane	0.01	1.4	0.02	1.7
Methylene chloride	0.01	0.7	0.04	0.9
Methylisobutylketone	해당 없음	해당 없음	0.04	1.1
m-Xylene	해당 없음	해당 없음	0.03	1.4
o-Xylene	0.01	1.0	0.02	1.4
p-Xylene	해당 없음	해당 없음	0.03	1.4
tert-Butyl alcohol	0.03	1.8	0.04	1.6
Tetrahydrofuran	0.01	1.5	해당 없음	해당 없음
Toluene	0.01	1.1	0.04	0.9
trans-1,2-Dichloroethene	0.01	1.0	해당 없음	해당 없음
Class 2B				
1,2-Dimethoxyethane	0.02	4.4	0.06	1.5
2-Hexanone	0.01	3.1	0.02	1.6
Chloroform	0.01	3.0	0.06	1.4
Cumene	0.01	1.8	0.04	1.8
Hexane	0.02	1.1	0.03	1.3
Nitromethane	0.02	2.4	0.06	2.2
Pyridine	0.01	3.4	0.03	4.7
Tetralin	0.01	2.1	0.01	1.9
Trichloroethene	0.01	2.3	0.03	1.2

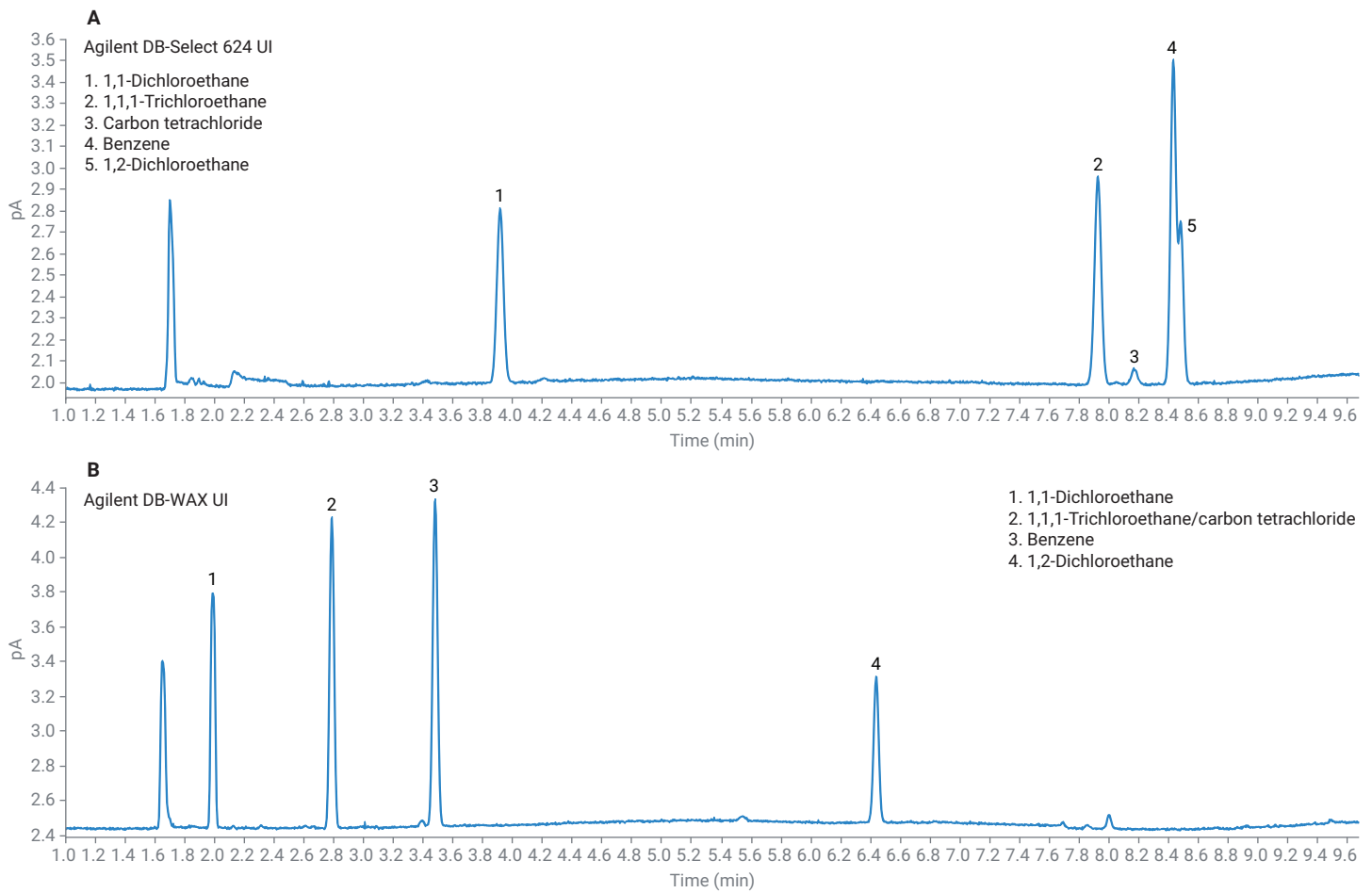


그림 1. Class 1 용매, (A) 절차 A 및 (B) 절차 B에 대한 크로마토그램

Class 2A 용매

Class 2A 용매는 USP <467>에서 확인할 수 있는 가장 많은 용매 세트를 포함합니다. 따라서, 주된 관심사는 분리능입니다. USP <467>에는 각 절차에 대한 특정한 분리능 요건이 명시되어 있습니다. 절차 A는 acetonitrile과 methylene chloride 간에 1.0 이상의 분리능을 요구하며, 절차 B는 methylisobutylketone과 *cis*-dichloroethene 간에 1.0 이상의 분리능을 요구합니다. 두 가지 요건 모두를 그 이상으로 충족했습니다. 이 Class에 추가된

세 가지 용매를 비롯하여, 절차 A에서 발생한 모든 동시 용리는 절차 B에서 분리되었습니다(그림 2). 모든 Class 2A 용매의 피크 면적과 머무름 시간 정밀도는 탁월했으며, 두 절차 모두에서 모든 피크 면적 RSD는 2% 미만이었습니다(표 2). 증가한 분할비와 더 긴 초기 오븐 유지 시간은 전반적으로 더 나은 크로마토그래피 분리능을 달성하는데 도움이 되었습니다. 특히, DB-WAX UI 컬럼에서 MIBK와 acetonitrile 간의 분리능이 향상되어 Class 1 용매에 대한 S/N 요건을

충족했습니다(그림 3). 감도 개선이 필요한 경우, 5:1의 더 낮은 분할 흐름에서도 다른 Class 2A 용매에 대한 분리능 요건은 충족하였습니다.

Class 2B 용매

Class 2B 용매에는 성능 요건이 없습니다. 어떤 컬럼에서도 동시 용리가 없었으며, 피크 면적과 머무름 시간 정밀도 모두에서 우수한 결과를 얻었습니다(표 2, 그림 4).

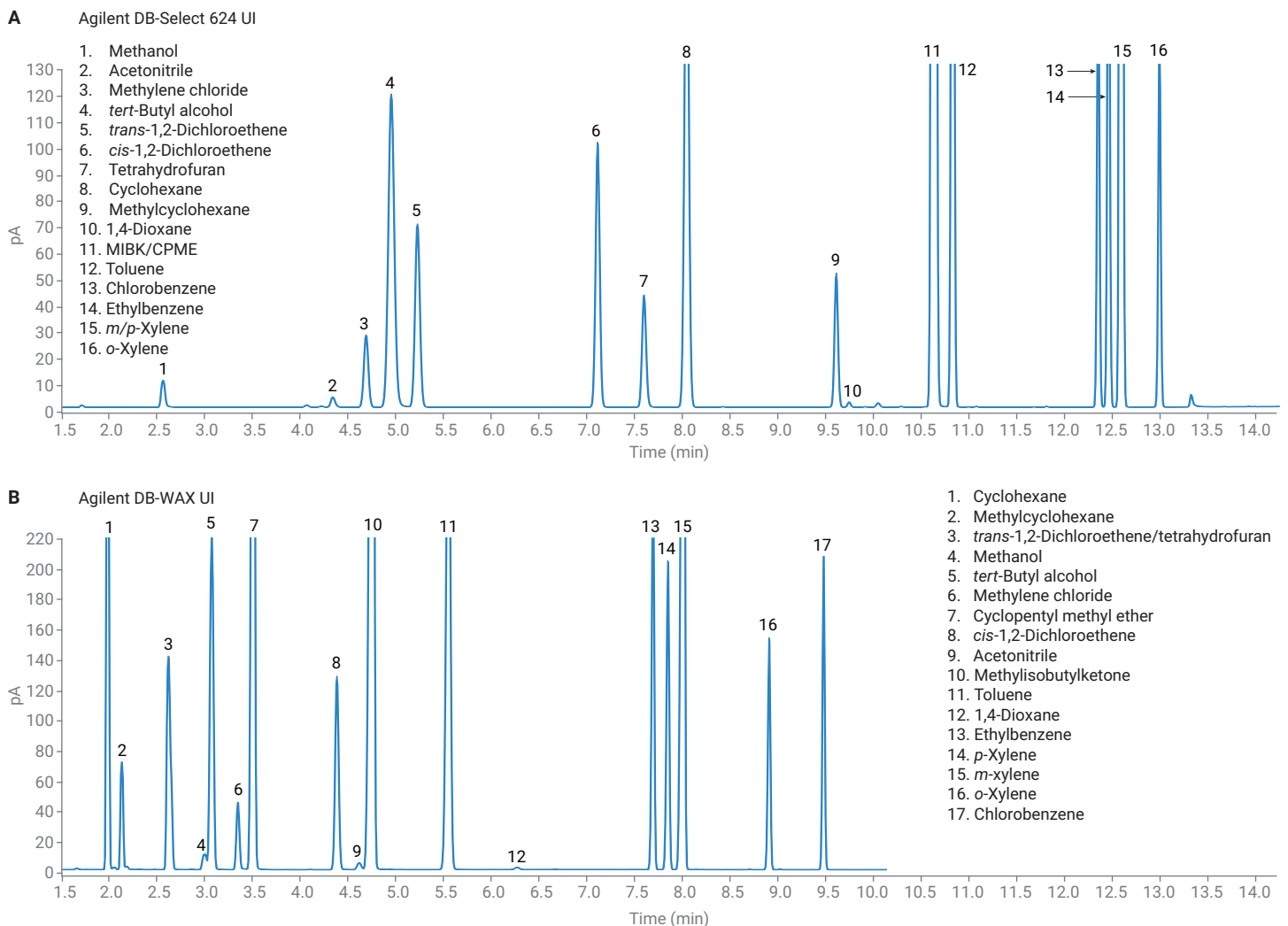


그림 2. Class 2A 용매, (A) 절차 A 및 (B) 절차 B에 대한 크로마토그램

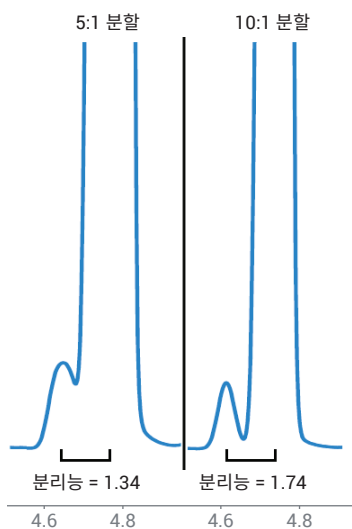


그림 3. Agilent DB-WAX UI 컬럼에서 acetonitrile과 MIBK 간의 USP 분리능 5:1과 10:1 분할비 비교.

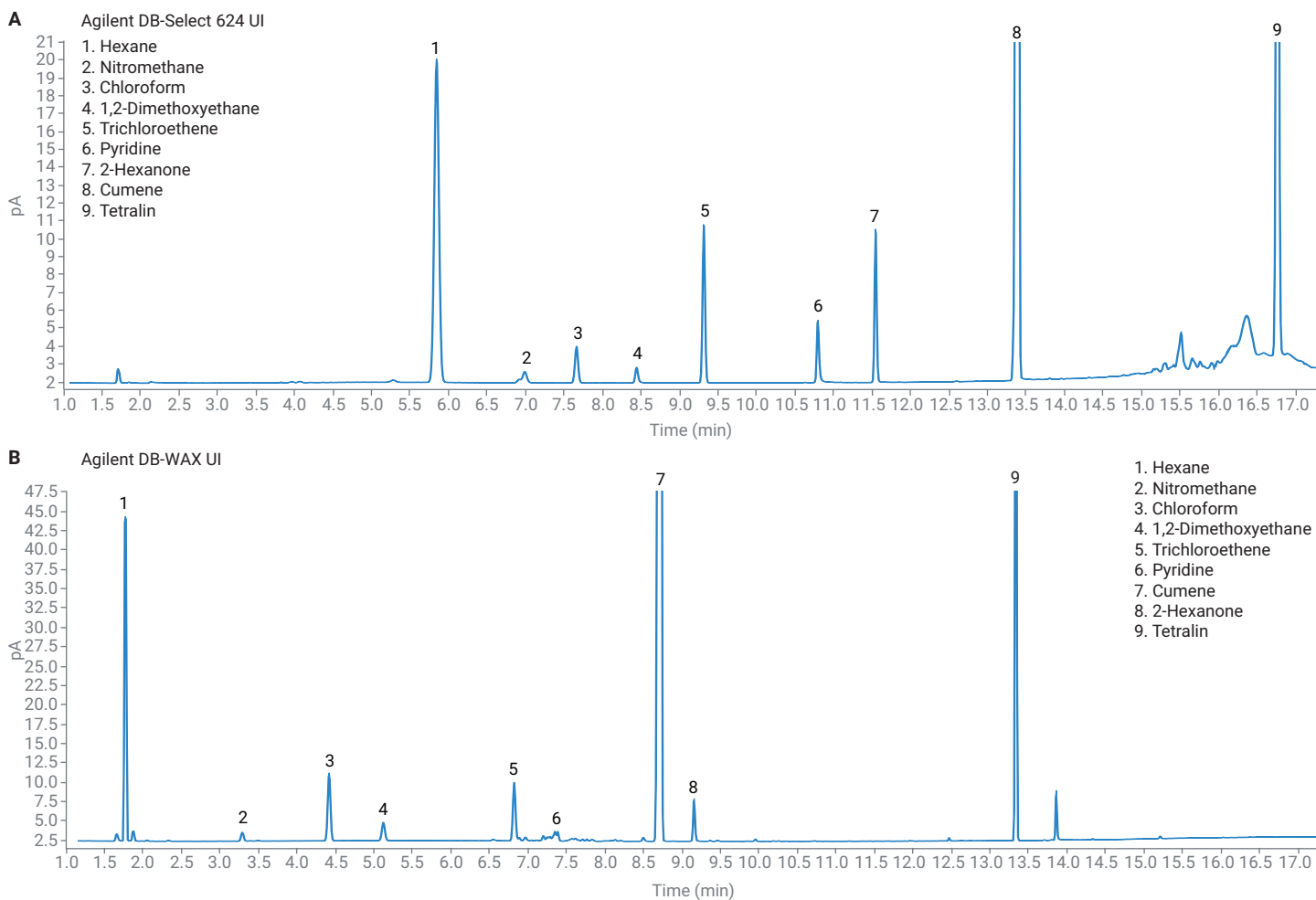


그림 4. Class 2B 용매, (A) 절차 A 및 (B) 절차 B에 대한 크로마토그램

결론

Agilent 8697 헤드스페이스 샘플러는 USP <467>에 따른 잔류용매 분석에서 탁월한 성능을 보여주었습니다. 또한, 7697 HSS의 분석법 조건으로 8697 HSS에서도 유사한 성능을 얻을 수 있음을 결과로 확인했습니다.

참고 문헌

1. USP <467> Residual Solvents. https://www.uspnf.com/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/revisions/gc-467-residual-solvents-ira-20190927.pdf (accessed August 2020).
2. Impurities: 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> (accessed August 2020).
3. Agilent Intuvo 9000 GC 시스템을 이용한 잔류용매 분석. 애질런트 테크놀로지스 응용 자료, 발행번호 5991-9029KO, **2018**.
4. Firor, R. L. Analysis of USP <467> Residual Solvents with Improved Repeatability Using the Agilent 7697A Headspace Sampler. *Agilent Technologies application note*, publication number 5990-7625EN, **2012**.
5. System Parameter and Performance Comparison Between Agilent 7697A and G1888A Headspace Sampler for USP <467>. *Agilent Technologies technical overview*, publication number 5991-5182EN, **2014**.

www.agilent.com/chem

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2021
2021년 3월 22일, 한국에서 인쇄
5994-3075KO

한국애질런트테크놀로지스(주)
대한민국 서울특별시 서초구 강남대로 369,
A+ 에셋타워 9층, 06621
전화: 82-80-004-5090 (고객지원센터)
팩스: 82-2-3452-2451
이메일: korea-inquiry_lsca@agilent.com