

Agilent Intuvo 9000 GC 시스템을 이용한 잔류용매 분석

기술적 이점: Flow Chip 모듈 방식으로
간소화된 듀얼 컬럼 분석



소개

USP <467>에는 제약 업계의 잔류용매 분석법이 정의되어 있습니다. 의약품 생산 과정에서 용매 선택은 생산율을 높이거나 합성된 제품의 화학적 성질에 영향을 줄 수 있습니다. 용매는 제품의 약효 증가에는 영향을 미치지 않으며, 제품 사양과 의약품 제조 및 품질관리 기준을 충족하기 위해 최대한 완벽하게 제거해야 합니다¹. 그러므로 생산 또는 정제 과정에서 수행되는 잔류용매 검사는 필수 작업입니다.

USP <467>에서는 단일 컬럼 분석 및 상이한 머무름 시간을 나타내는 다른 분석 컬럼으로 구성된 2번째 시스템에서의 확인 절차를 설명하고 있습니다. 전통적인 가스 크로마토그래피 시스템에서 이 분석을 할 경우에는 2회의 별도 분석 실행이 필요합니다. 듀얼 불꽃 이온화 검출기(FID)용 주입구 분배기가 장착된 Agilent Intuvo 9000 GC 시스템은 절반의 소요 시간으로 단일 실행에서 2회 분석을 할 수 있습니다.

추가 정보는 다음 사이트에서
확인하십시오.

www.agilent.com

실험

Intuvo 9000 GC에는 Agilent 7697A 헤드스페이스 샘플러가 장착되었습니다. 등급 1, 등급 2A 및 등급 2B의 표준 용액이 USP <467> 분석법에 규정된 대로 준비되었습니다. 등급 1은 애질런트 농축 앰플(p/n 5190-0490)을 이용하여 표준 용액 1mL와 디메틸술폰 9mL를 100mL가 되도록 물로 희석하는 방식으로 준비되었습니다(스톡 1). 스톡 2는 1mL의 스톡 1을 물로 희석하여 100mL가 되도록 제조했습니다. 마지막으로 스톡 3은 10mL의 스톡 2를 물로 희석하여 100mL의 용액으로 준비하였습니다. 스톡 3은 헤드스페이스 바이알 준비를 위해 사용되었습니다.

애질런트 등급 2A(p/n 5190-0492)와 등급 2B(p/n 5190-0513)는 표준품 1mL를 각각 물로 희석해 100mL가 되도록 제조했습니다.

헤드스페이스 바이알은 각 등급 희석액 1mL를 5mL의 물에 첨가하는 방식으로 만들어졌습니다.

반복 시료 분석에는 듀얼 컬럼, 듀얼 검출용 주입구 분배기로 구성된 Intuvo 9000 GC 시스템과 7697A 헤드스페이스 샘플러가 사용되었습니다.

표 1과 2에는 이전 작업에서 사용된 것과 거의 동일한 기기 파라미터가 표시되어 있습니다². 이 응용법에서 제공하는 향상된 컬럼 성능을 알아보기 위해 Agilent DB-624 Select Ultra Inert(UI), Agilent DB-WAX Ultra Inert(UI) 등 다른 컬럼이 선택되었습니다. Guard Chip과 버스 추가는 Intuvo 9000 GC 시스템만의 고유한 특징입니다. 주입된 시료가 깨끗한 상태이므로, Jumper Chip이 선택되었습니다. 이는 시료를 주입구로부터 Jumper Chip을 거쳐 주입구 분배기로 이전하기 위해 주입구 온도로 유지되었습니다. 버스는 기본 설정 온도로 유지되었습니다.

표 1. Agilent Intuvo 9000 GC 시스템의 기기 조건

Agilent Intuvo 9000 GC	설정값
오븐	40°C(5분) 15°C/분으로 180°C까지(3분 유지)
분할/비분할 주입구	분할 5:1, 140°C
DB-624 Select Ultra Inert(123-0334UI-INT) 30m × 320µm, 1.8µm	일정 유량 2mL/분
DB-WAX Ultra Inert(123-7032UI-INT) 30m × 320µm, 0.25µm	컬럼 1로 제어
FID (앞과 뒤)	250°C
H ₂	30mL/분
Air	400mL/분
N ₂ (make up)	25mL/분
Jumper chip	140°C
버스	200°C
앞/뒤 신호	20Hz

표 2. Agilent 7697A 헤드스페이스 샘플러의 기기 조건

Agilent 7697A 헤드스페이스 샘플러	설정값
오븐	85°C
루프	85°C
이송 라인	100°C
바이알 평형화 시간	40분
주입 시간	0.5분
바이알 크기	10mL
바이알 shaking	Level 2, 25 shakes/분
바이알 채우기 모드	기본 (15psi까지 50mL/분, 0.1분)
바이알 채우기 압력	15psi
루프 경사율	20psi/분
루프 최종 압력	0psi
루프 평형화 시간	0.05분



Agilent 7697A 헤드스페이스 샘플러

결과 및 토의

각 용매 표준품(등급 1, 2A, 2B)에 대해 9개 헤드스페이스 바이알을 준비하여 재현성(면적 및 머무름 시간)을 측정하였습니다. 2개 컬럼 모두에서 3개 등급에 대해 우수한 머무름 시간 재현성을 얻었습니다. 대부분의 분석물질은 머무름 시간 재현성에서 <0.1%의 상대 표준 편차(RSD)를 나타냈습니다. 면적 재현성 또한 우수했으며, 2개 컬럼 모두에서 모든 분석물질이 5% 또는 그보다 우수한 RSD를 나타냈습니다. 대부분의 분석물질은 2% 또는 그보다 우수한 면적 RSD를 나타냈습니다. 표 3~5에는 듀얼 컬럼에서 측정된 3개 등급의 머무름 시간과 면적 재현성이 정리되어 있습니다.

등급 1은 면적에 대해 가장 높은 RSD를 보였습니다(표 3). 등급 1은 여러 단계의 희석을 거쳤기 때문에 3개 등급 중 가장 낮은 최종 농도를 가지고 있었습니다. 이렇게 희석된 시료의 분석 결과는 시료 전처리 재현성, 기기 정밀성, 피크 적분 일관성 등 보다 다양한 면모가 반영된 결과입니다.

등급 2A는 가장 뛰어난 면적 정밀성을 나타냈습니다(표 4). 이는 아마도 등급 1 또는 등급 2B보다 상대적으로 높은 농도로 인한 결과일 것입니다. 등급 2B는 보다 넓은 범위의 농도를 가지며, 이는 상대적으로 넓은 범위의 면적 RSD로 이어졌습니다(표 5). 보다 낮은 농도의 분석물질 또는 높은 비대칭성의 분석물질(*n*-hexane, nitromethane, 1,2-dimethoxyethane)에 대한 면적 RSD는 높은 반응과 대칭성 피크를 보유한 분석물질(tetralin)보다 살짝 더 높았습니다. 머무름 시간 재현성은 등급, 반응 또는 대칭성과 관계없이 매우 우수하게 나타났습니다. 니트로메탄(0.4%)을 제외한 모든 분석물질이 0.2% 또는 그보다 우수한 머무름 시간 재현성을 나타냈으며, 대부분의 분석물질은 <0.1%의 매우 높은 정밀성을 보였습니다.

표 3. 주입구 분배기 구성의 Agilent Intuvo 9000 GC 시스템에서 분석된 등급 1 화합물의 머무름 시간 정밀성 및 피크 면적 재현성

화합물	Agilent DB-624 RT RSD(%)	Agilent DB-624 area RSD(%)	Agilent DB-WAX RT RSD(%)	Agilent DB-WAX area RSD(%)
1,1-Dichloroethane	0.031%	3.3%	0.074%	2.1%
1,1,1-Trichloroethane	0.026%	2.6%	0.037%	1.8%
Carbon tetrachloride	0.11%	4.8%	1,1,1-trichloroethane과 동시용리	1,1,1-trichloroethane과 동시용리
Benzene	0.017%	2.2%	0.055%	1.5%
1,2-Dichloroethane	0.016%	3.9%	0.067%	1.8%

표 4. 주입구 분배기 구성의 Agilent Intuvo 9000 GC 시스템에서 분석된 등급 2A 화합물의 머무름 시간 정밀성 및 피크 면적 재현성

화합물	Agilent DB-624 RT RSD(%)	Agilent DB-624 area RSD(%)	Agilent DB-WAX RT RSD(%)	Agilent DB-WAX area RSD(%)
Methanol	0.23%	1.3%	0.22%	1.3%
Acetonitrile	0.023%	2.1%	0.039%	2.0%
Methylene chloride	0.018%	0.98%	0.033%	0.78%
<i>trans</i> -1,2-Dichloroethene	0.016%	0.85%	0.023%	0.72%
<i>cis</i> -1,2-Dichloroethene	0.012%	0.76%	0.039%	0.78%
Tetrahydrofuran	0.018%	0.95%	methylene chloride와 동시용리	methylene chloride와 동시용리
Cyclohexane	0.011%	0.96%	0.013%	0.96%
Methylcyclohexane	0.0087%	0.98%	0.018%	0.96%
1,4-Dioxane	0.012%	1.9%	0.025%	1.7%
Toluene	0.0073%	0.81%	0.029%	0.80%
Chlorobenzene	0.0061%	0.69%	0.024%	0.69%
Ethylbenzene	0.0060%	0.84%	0.016%	0.86%
<i>m</i> -Xylene	0.0061%	0.82%	0.017%	0.82%
<i>p</i> -Xylene	<i>m</i> -xylene과 동시용리	<i>m</i> -xylene과 동시용리	0.015%	0.83%
<i>o</i> -Xylene	0.0059%	0.81%	0.026%	0.81%

표 5. 주입구 분배기 구성의 Agilent Intuvo 9000 GC 시스템에서 분석된 등급 2B 화합물의 머무름 시간 정밀성 및 면적 재현성

화합물	Agilent DB-624 RT RSD(%)	Agilent DB-624 area RSD(%)	Agilent DB-WAX RT RSD(%)	Agilent DB-WAX area RSD(%)
Hexane	0.021%	4.4%	0.039%	4.5%
Nitromethane	0.42%	4.9%	0.018%	2.5%
Chloroform	0.0099%	4.8%	0.026%	3.2%
1,2-Dimethoxyethane	0.013%	3.6%	0.089%	3.6%
Trichloroethane	0.010%	3.4%	0.028%	3.1%
Pyridine	0.020%	1.7%	0.034%	1.7%
2-Hexanone	0.0081%	2.7%	0.020%	0.74%
Tetralin	0.0078%	2.1%	0.016%	2.1%

7697A 헤드스페이스 샘플러와 Intuvo 9000 GC 시스템으로 얻은 듀얼 컬럼 분석 결과는 또한 우수한 크로마토그래피 성능을 제공하였고, 2개 컬럼을 동시에 분석할 경우에 얻을 수 있는 이점을 유감없이 발휘했습니다. 등급 1에서 사염화탄소는 USP <467> 요건을 충족하는 적합한 수준의 신호 대 잡음비를 나타냈습니다 (그림 1).

DB-624 Select UI와 DB-WAX UI 컬럼이 모두 우수한 피크 대칭성과 2개 컬럼간 유사한 반응을 보였습니다. DB-624 Select UI에서의 1,1,1-트리클로로에탄과 사염화탄소의 분리 성공과 DB-WAX UI에서의 실패(그림 2)는 2개 컬럼에서 동시에 측정을 수행하는 방식의 유용성을 보여줍니다.

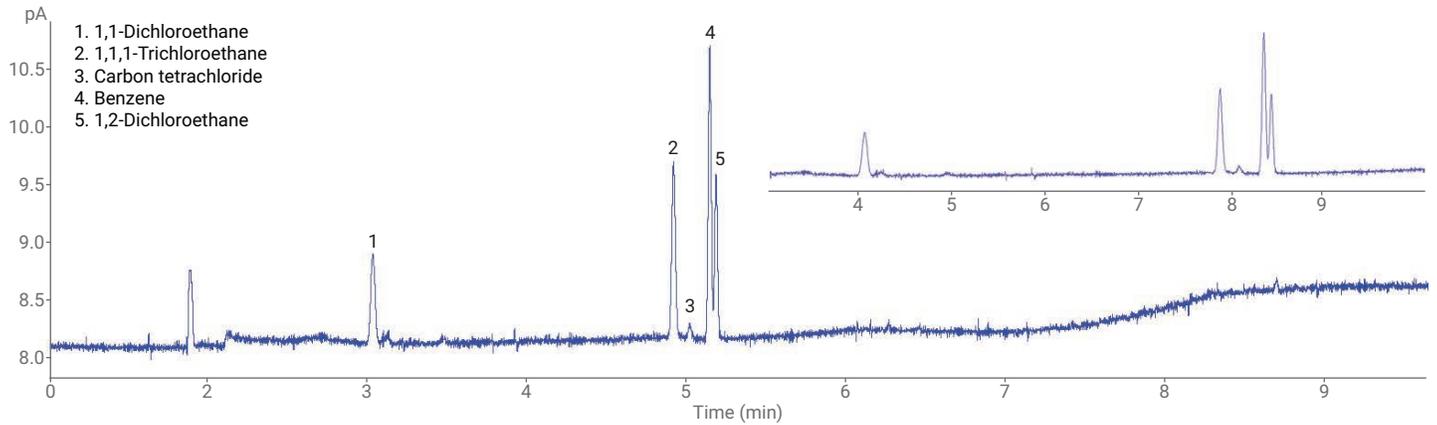


그림 1. Agilent DB-624 Select UI 컬럼의 등급 1 잔류용매 분석에서는 우수한 크로마토그래피 결과가 나타났으며, 사염화탄소를 포함한 모든 용매의 신호 대 잡음비 역시 규정을 충족시켰습니다.

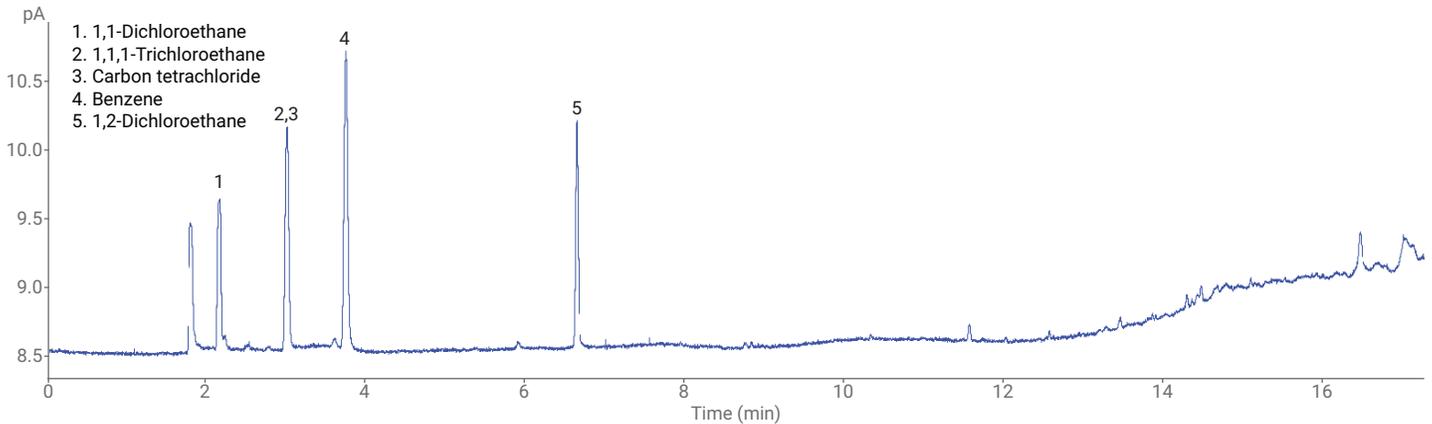


그림 2. Agilent DB-WAX UI와 Agilent DB-624 Select UI 컬럼의 등급 1 화합물 분석에서는 예상한 대로 머무름 시간에서 차이를 보였으나, 용리 순서는 동일했습니다.

등급 2A에서 또한 분석 대상 용매에 대해 우수한 피크 대칭성이 나타났습니다. 주요 용리 순서는 DB-624 Select UI와 DB-WAX UI에서 다르게 나타났으며, 이는 다른 종류의 고정상으로 인해 예상했던 결과입니다(그림 3과 4). 주요 분석물질(사염화탄소)의 분리능이 DB-624 Select UI에서 더 우수하게 나타났던 등급 1의 사례와는 대조적으로, 등급 2A에 포함된 자일렌

이성질체의 분리능은 DB-Wax UI 컬럼에서 더 우수하게 나타났습니다. 이 역시 2개 컬럼을 동시에 분석하는 것의 이점을 보여줍니다. 등급 1에서 더 우수한 DB-624 Select UI와 등급 2A에서 더 우수한 DB-WAX UI를 단일 시스템에서 동시에 분석함으로써 2개 등급에 대한 최적의 크로마토그래피를 수행할 수 있습니다.

등급 2B는 USP <467> 잔류용매 분석에서 듀얼 컬럼을 사용하는 것의 이점을 보여주는 최종 사례입니다. 니트로메탄은 DB-624 Select UI 컬럼에서 낮은 반응과 비대칭적 피크 모양을 보였습니다(그림 5의 피크 2). 그러나 DB-WAX UI 컬럼에서는 피크 모양과 반응이 향상되었습니다(그림 6). 이는 또한 DB-624 Select UI와 DB-WAX UI 컬럼간 니트로메탄에 대한 면적 RSD가 향상되는 결과로 이어졌습니다.

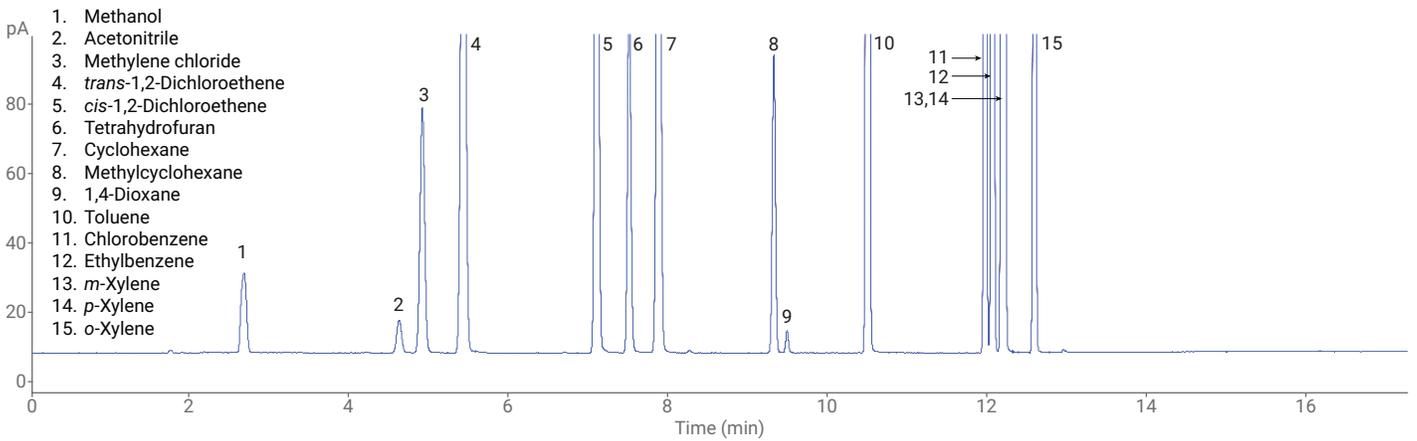


그림 3. Agilent DB-624 Select UI 컬럼의 등급 2A 분석에서는 우수한 피크 모양이 나타났습니다.

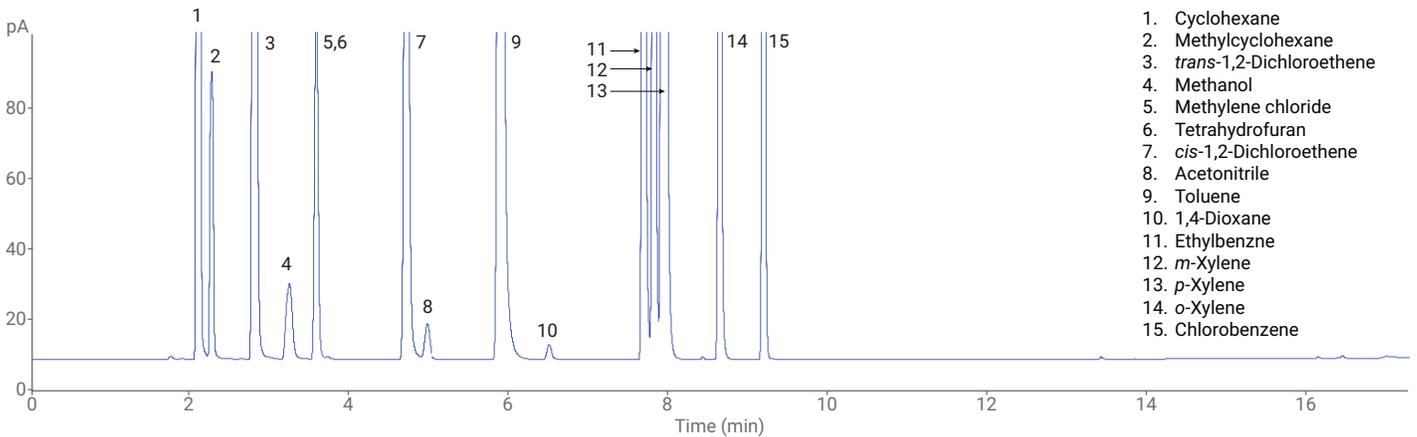


그림 4. Agilent DB-WAX UI 컬럼의 등급 2A 분석에서는 용리 순서가 바뀌었습니다.

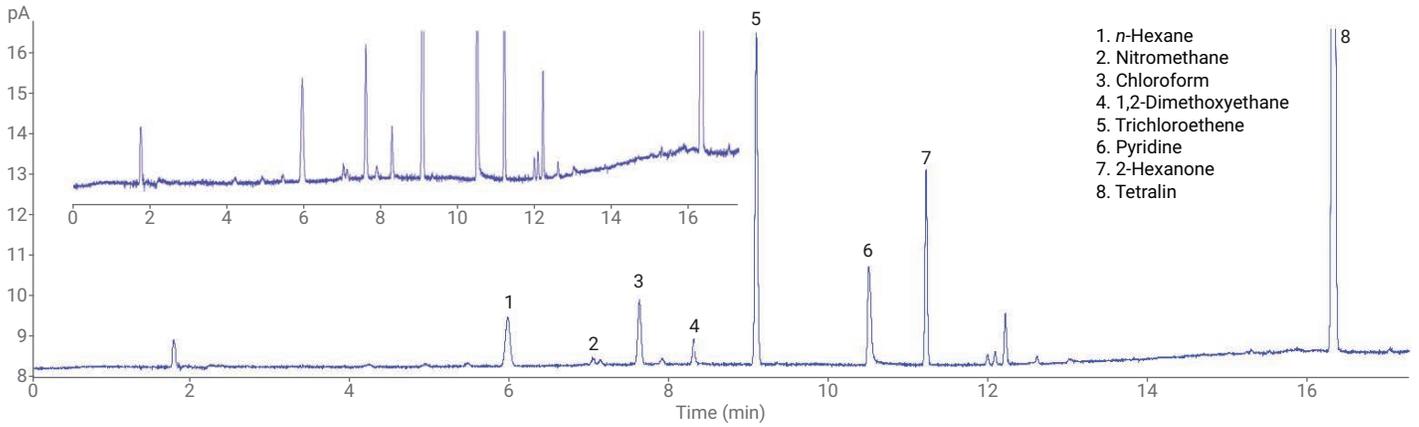


그림 5. Agilent DB-624 Select UI 컬럼의 등급 2B 잔류용매 분석에서는 전체 반응 범위에 걸쳐 우수한 피크 모양이 나타났습니다.

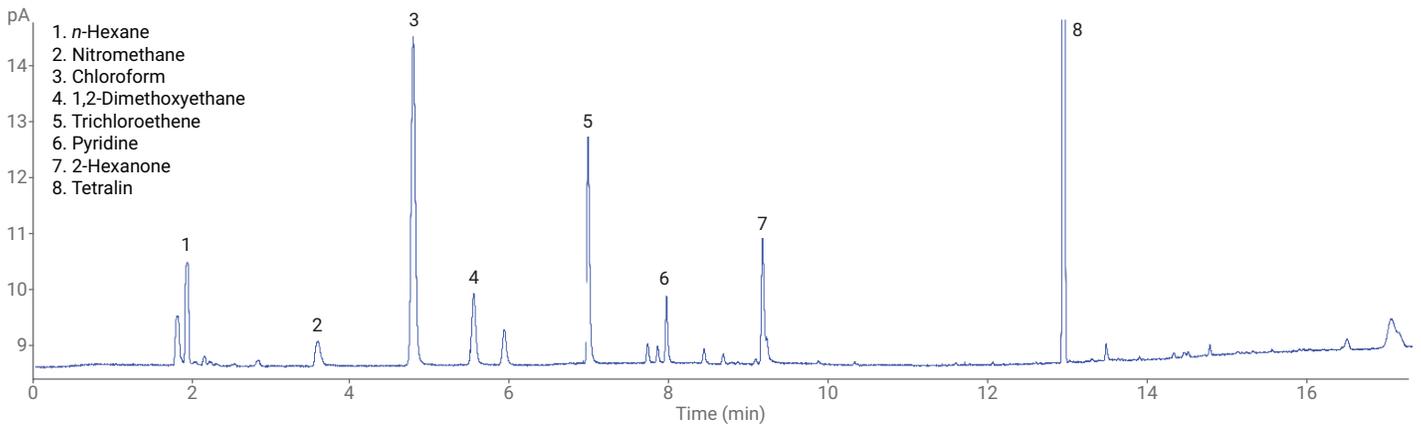


그림 6. Agilent DB-WAX UI 컬럼의 등급 2B 잔류용매 분석에서는 니트로메탄에 대해 향상된 피크 모양이 나타났습니다.

결론

Agilent 7697A 헤드스페이스 샘플러를 장착한 듀얼 컬럼, 듀얼 FID 시스템 구성의 Agilent Intuvo 9000 GC 시스템으로 우수한 재현성을 얻었습니다. 이 시스템으로 얻은 결과는 USP <467>용으로 이전에 발행된 전통적인 단일 컬럼 GC 시스템 활용 결과와 매우 일관된 경향을 나타냈습니다^{2,3}. 9개 헤드스페이스 바이알의 면적 정밀성은 5% 또는 그보다 우수한 수준이었으며, 머무름 시간 재현성은 0.2% 또는 그보다 우수한 수준이었습니다.

듀얼 컬럼을 이용한 USP <467> 잔류용매 분석은 기존의 방법에 비해 많은 이점을 제공합니다. 등급 1 잔류용매가 Agilent DB-624 Select UI 컬럼에서 최고의 결과를 보인 반면, 등급 2A의 자일렌 이성질체는 Agilent DB-WAX UI 컬럼에서 완전하게 분리되었습니다. Intuvo 9000 GC에 주입구 분배기를 구성하여, 2개 컬럼을 동시에 사용함으로써 2개 고정상을 통해 향상된 크로마토그래피의 이점을 얻을 수 있었습니다. 이러한 구성은 시료를 2개의

별도 시스템에서 2개의 다른 컬럼을 이용하여 분석해야 할 필요성을 없애주기 때문에 분석 시간은 반으로 줄어듭니다.

듀얼 컬럼, 듀얼 FID 분석용 주입구 분배기 구성의 Intuvo 9000 GC 시스템과 7697A 헤드스페이스 샘플러를 함께 사용함으로써, USP <467>에서 규정한 잔류용매 분석을 견고하고 직관적인 방식으로, 보다 짧은 시간에 완수할 수 있었습니다.

참고문헌

1. USP 40, general chapter USP <467> Residual Solvents, <https://hmc.usp.org/sites/default/files/documents/HMC/GCs-Pdfs/c467.pdf> (accessed October 2017).
2. Firor, R. L. Analysis of USP <467> residual solvents with improved repeatability using the Agilent 7697A Headspace Sampler, *Agilent Technologies Application Note*, 5990-7625EN, August **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, *Agilent Technologies Application Note*, 5991-1834EN, January **2013**.

www.agilent.com/chem/intuvo

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2018
2018년 2월 23일, 한국에서 발행
5991-9029KO

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