Analyse von Restlösemittel mit einem Agilent Intuvo 9000 GC-System

Vorteil durch Technologie: Modulare Flow-Chips für die einfachere Zwei-Säulen-Analyse



Einführung

Die US-amerikanische USP <467> definiert eine Methode zur Analyse von Restlösemitteln in Arzneimitteln. Die Wahl des Lösemittels für die Arzneimittelfertigung kann die Ausbeute verbessern und die chemischen Eigenschaften der synthetisierten Produkte beeinflussen. Lösemittel erhöhen jedoch nicht die Wirksamkeit des Produkts. Aus diesem Grund müssen sie möglichst entfernt werden, damit das Produkt die Produktspezifikation und die Anforderungen an die Good Manufacturing Practice erfüllt.[1] Tests auf Restlösemittel während der Fertigungs- bzw. Aufreinigungsprozesse sind daher ein notwendiger Aspekt der Fertigung.

USP <467> sieht eine Analyse mit einer Säule und eine Bestätigung auf einem zweiten System mit einer anderen analytischen Säule mit anderen Retentionszeiten vor. Bei herkömmlichen Gaschromatographiesystemen müssen für diese Analyse zwei separate Analysenläufe durchgeführt werden. Ein Agilent Intuvo 9000 GC-System besitzt jedoch einen Einlass-Splitter für einen Nachweis mit zwei Säulen und zwei Flammenionisationsdetektoren (FID). Mit diesem System können daher beide Analysen gleichzeitig im Rahmen eines einzigen Laufs durchgeführt werden, was den Zeitaufwand halbiert.

Weitere Informationen finden Sie unter:
www.agilent.com

Agilent
Trusted Answers

Experimentelles

Ein Intuvo 9000 GC-System wurde mit einem Agilent 7697A Headspace-Probengeber ausgestattet. Es wurden Standardlösungen der Klasse 1, Klasse 2A und Klasse 2B hergestellt und gemäß USP <467> untersucht. Zur Herstellung der Klasse-1-Standardlösung wurden 1 ml Agilent Konzentrat aus einer Ampulle (Bestell-Nr. 5190-0490) und 9 ml Dimethylsulfoxid mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt (Stammlösung 1). Zur Herstellung der Stammlösung 2 wurde 1 ml Stammlösung 1 mit Wasser auf 100 ml verdünnt. Zur Herstellung der Stammlösung 3 wurden schließlich 10 ml Stammlösung 2 mit Wasser auf 100 ml verdünnt. Stammlösung 3 diente zur Vorbereitung von Headspace-Probenflaschen.

Agilent Klasse 2A (Bestell-Nr. 5190-0492) und Agilent Klasse 2B (Bestell-Nr. 5190-0513) wurden verdünnt. Dazu wurde jeweils 1 ml Standardlösung mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt.

Zur Vorbereitung der Headspace-Probenflaschen wurde jeweils 1 ml verdünnte Standardlösung zu 5 ml Wasser gegeben.

Die Proben wurden mit dem 7697A Headspace-Probengeber und dem Intuvo 9000 GC-System, konfiguriert mit Einlass-Splitter und zwei Säulen/Detektoren, in Replikaten analysiert.

Die Geräteparameter in Tabellen 1 und 2 sind fast identisch mit den Geräteparametern in vorherigen Studien[2]. Zur Darstellung des verbesserten Säulenangebots für diese Applikation wurden andere Säulen gewählt: Agilent DB-624 Select Ultra Inert (UI) und Agilent DB-WAX Ultra Inert (UI). Der Guard Chip und der Bus sind exklusive Merkmale des Intuvo 9000 GC-Systems. Wegen der relativ hohen Reinheit der hier gemessenen Proben wurde der Jumper Chip gewählt. Die Temperatur des Jumper Chips wurde auf die Einlasstemperatur eingestellt und dort gehalten, um die Probe durch den Jumper Chip zum Einlass-Splitter zu leiten. Der Bus wurde auf den standardmäßigen Temperatur-Sollwert eingestellt und dort gehalten.

Tabelle 1: Gerätebedingungen für das Agilent Intuvo 9000 GC-System.

Agilent Intuvo 9000 GC	Sollwert
Ofen	40 °C (5 min) 15 °C/min bis 180 °C (3 min)
Split/Splitless-Einlass	Split 5:1, 140 °C
DB-624 Ultra Inert (123-0334UI-INT) 30 m × 320 µm, 1,8 µm	Konstanter Fluss 2 ml/min
DB-WAX Ultra Inert (123-7032UI-INT) 30 m × 320 µm, 0,25 µm	Kontrolliert von Säule 1
FID (vorne und hinten)	250 °C
H_2	30 ml/min
Luft	400 ml/min
N_2 (Makeup)	25 ml/min
Jumper Chip	140 °C
Bus	200 °C
Vorderes/hinteres Signal	20 Hz

Tabelle 2: Gerätebedingungen für den Agilent 7697A Headspace-Probengeber.

Agilent 7697A Headspace-Probengeber	Sollwert
Ofen	85 °C
Schleife	85 °C
Übertragungsleitung	100 °C
Äquilibrierungszeit der Probenflaschen	40 min
Injektionsdauer	0,5 min
Probenflaschengröße	10 ml
Schütteln der Probenflaschen	Level 2, 25 Schüttelbewegungen/min
Füllmodus der Probenflaschen	Standard (50 ml/min bis 15 psi (0,1 min))
Fülldruck der Probenflaschen	15 psi
Anstiegsrate der Schleife	20 psi/min
Enddruck der Schleife	0 psi
Äquilibrierungszeit der Schleife	0,05 min



Agilent 7697A Headspace-Probengeber.

Ergebnisse und Diskussion

Für jede Lösemittelstandardlösung (Klasse 1, 2A und 2B) wurden neun Headspace-Probenflaschen vorbereitet und die Reproduzierbarkeit (Fläche und Retentionszeit) bewertet. Bei beiden Säulen und allen drei bewerteten Klassen wurde eine hervorragende Retentionszeit-Reproduzierbarkeit erzielt. Die meisten Analyten hatten eine relative Standardabweichung (RSD) unter 0,1 % für Retentionszeit-Reproduzierbarkeit. Auch die Flächen-Reproduzierbarkeit war gut. Der RSD-Wert betrug bei allen Analyten auf beiden Säulen 5 % oder weniger. Bei den meisten Analyten lag die Flächen-RSD bei 2 % oder darunter. In Tabellen 1 bis 3 sind die Retentionszeit- und Flächen-Reproduzierbarkeits-Messungen der drei Klassen mit zwei Säulen dargestellt.

Klasse 1 hatte die höchste Flächen-RSD (Tabelle 3). Die Klasse-1-Standardlösung war in einer Verdünnungsreihe mehrfach verdünnt worden, daher war die Endkonzentration im Vergleich mit den beiden anderen Klassen am niedrigsten. Diese Verdünnung verursachte eine höhere Variabilität und diente zur Messung der Reproduzierbarkeit der Probenvorbereitung, der Gerätegenauigkeit und der Konsistenz der Ergebnisse der Peakintegration.

Die Klasse 2A hatte die beste Flächengenauigkeit (Tabelle 4). Dies lag wahrscheinlich daran, dass die bewertete Endkonzentration höher war als bei Klasse 1 oder Klasse 2B. Klasse 2B umfasst einen breiteren Konzentrationsbereich, der sich in dem breiteren Bereich der erzielten RSD widerspiegelt (Tabelle 5). Bei Analyten in niedrigeren Konzentrationen oder mit stärker asymmetrischen Peaks (*n*-Hexan, Nitromethan und 1,2-Dimethoxyethan) sind die Flächen-RSD etwas höher als bei hohen Responses und symmetrischen Peaks (Tetralin). Die Retentionszeit-Reproduzierbarkeit war unabhängig von Klasse, Response und Symmetrie hervorragend. Die RSD-Werte für alle Analyten lagen bei 0,2 % oder darunter (mit Ausnahme von Nitromethan mit 0,4 %). Bei den meisten Analyten war die Genauigkeit sogar noch besser und lag unter 0,1 %.

Tabelle 3: Präzision der Retentionszeit und Peakflächen-Reproduzierbarkeit für Verbindungen der Klasse 1, analysiert mit einem Agilent Intuvo 9000 GC-System mit Einlass-Splitter.

Verbindung	Agilent DB-624 RT-RSD (%)	Agilent DB-624 Flächen-RSD (%)	Agilent DB-WAX RT-RSD (%)	Agilent DB-WAX Flächen-RSD (%)
1,1-Dichlorethan	0,031 %	3,3 %	0,074 %	2,1 %
1,1,1-Trichlorethan	0,026 %	2,6 %	0,037 %	1,8 %
Tetrachlorkohlenstoff	0,11 %	4,8 %	Eluiert zusammen mit 1,1, 1-Trichlorethan	Eluiert zusammen mit 1,1, 1-Trichlorethan
Benzol	0,017 %	2,2 %	0,055 %	1,5 %
1,2-Dichlorethan	0,016 %	3,9 %	0,067 %	1,8 %

Tabelle 4: Präzision der Retentionszeit und Peakflächen-Reproduzierbarkeit für Verbindungen der Klasse 2A, analysiert mit einem Agilent Intuvo 9000 GC-System mit Einlass-Splitter.

Verbindung	Agilent DB-624 RT-RSD (%)	Agilent DB-624 Flächen-RSD (%)	Agilent DB-WAX RT-RSD (%)	Agilent DB-WAX Flächen-RSD (%)
Methanol	0,23 %	1,3 %	0,22 %	1,3 %
Acetonitril	0,023 %	2,1 %	0,039 %	2,0 %
Methylenchlorid	0,018 %	0,98 %	0,033 %	0,78 %
trans-1,2-Dichlorethen	0,016 %	0,85 %	0,023 %	0,72 %
cis-1,2-Dichlorethen	0,012 %	0,76 %	0,039 %	0,78 %
Tetrahydrofuran	0,018 %	0,95 %	Eluiert zusammen mit Methylenchlorid	Eluiert zusammen mit Methylenchlorid
Cyclohexan	0,011 %	0,96 %	0,013 %	0,96 %
Methylcyclohexan	0,0087 %	0,98 %	0,018 %	0,96 %
1,4-Dioxan	0,012 %	1,9 %	0,025 %	1,7 %
Toluol	0,0073 %	0,81 %	0,029 %	0,80 %
Chlorbenzol	0,0061 %	0,69 %	0,024 %	0,69 %
Ethylbenzol	0,0060 %	0,84 %	0,016 %	0,86 %
m-Xylol	0,0061 %	0,82 %	0,017 %	0,82 %
p-Xylol	Eluiert zusammen mit *m*-Xylol	Eluiert zusammen mit *m*-Xylol	0,015 %	0,83 %
o-Xylol	0,0059 %	0,81 %	0,026 %	0,81 %

Tabelle 5: Präzision der Retentionszeit und Flächen-Reproduzierbarkeit für Verbindungen der Klasse 2B, analysiert mit einem Agilent Intuvo 9000 GC-System mit Einlass-Splitter.

Verbindung	Agilent DB-624 RT-RSD (%)	Agilent DB-624 Flächen-RSD (%)	Agilent DB-WAX RT-RSD (%)	Agilent DB-WAX Flächen-RSD (%)
Hexan	0,021 %	4,4 %	0,039 %	4,5 %
Nitromethan	0,42 %	4,9 %	0,018 %	2,5 %
Chloroform	0,0099 %	4,8 %	0,026 %	3,2 %
1,2-Dimethoxyethan	0,013 %	3,6 %	0,089 %	3,6 %
Trichlorethan	0,010 %	3,4 %	0,028 %	3,1 %
Pyridin	0,020 %	1,7 %	0,034 %	1,7 %
2-Hexanon	0,0081 %	2,7 %	0,020 %	0,74 %
Tetralin	0,0078 %	2,1 %	0,016 %	2,1 %

Die Zwei-Säulen-Analyse mit dem 7697A Headspace-Probengeber und dem Intuvo 9000 GC-System sorgte außerdem für hervorragende chromatographische Leistung und zeigte die Vorteile einer gleichzeitigen Analyse mit beiden Säulen auf. Das Signal-Rauschen-Verhältnis von Tetrachlorkohlenstoff in dem Klasse-1-Standard entsprach den Anforderungen von USP <467> (Abb. 1). Bei beiden Säulen, DB-624 Select UI und DB-WAX UI, war die Peaksymmetrie hervorragend und die Response ähnlich. Mit der DB-624 Select UI konnten 1,1,1-Trichlorethan und Tetrachlorkohlenstoff getrennt werden, mit der DB-WAX UI jedoch nicht (Abb. 2). Dies ist ein gutes Beispiel für die Vorteile der gleichzeitigen Analyse mit zwei Säulen.

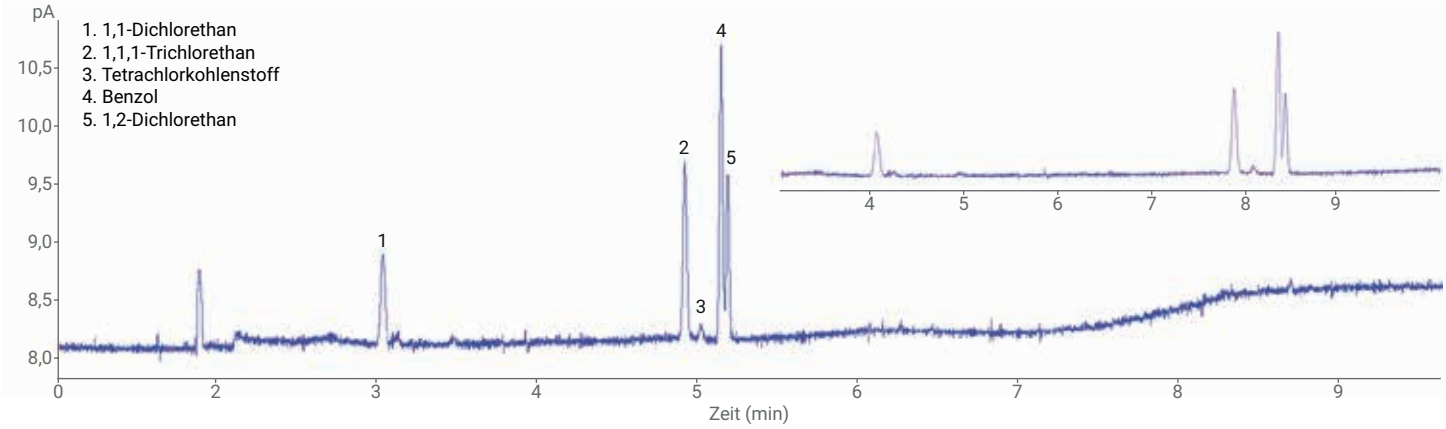


Abbildung 1: Die Analyse von Restlösemittel der Klasse 1 mit einer Agilent DB-624 Select UI Säule liefert hervorragende chromatographische Ergebnisse und erfüllt alle Anforderungen an das Signal-Rauschen-Verhältnis für alle Lösemittel einschl. Tetrachlorkohlenstoff.

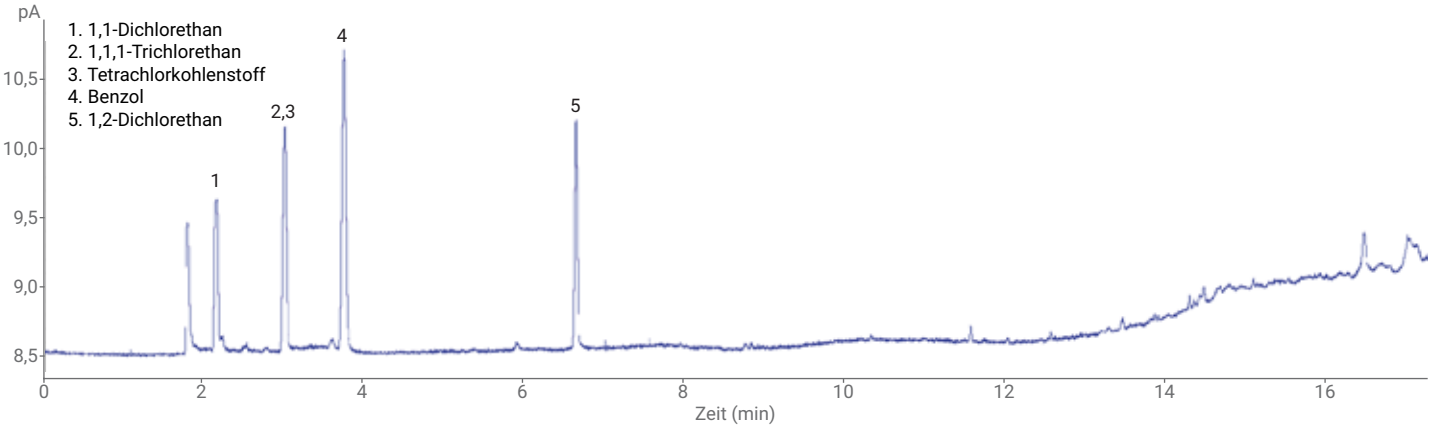


Abbildung 2: Bei der Analyse von Verbindungen der Klasse 1 mit einer Agilent DB-WAX UI und einer Agilent DB-624 Select UI Säule bleibt die Elutionsreihenfolge gleich, die Retentionszeiten sind jedoch erwartungsgemäß verschoben.

Auch für Klasse 2A war die Peaksymmetrie der bewerteten Lösemittel hervorragend. Bei der Elutionsreihenfolge wurden zwischen den beiden Säulen, DB-624 Select UI und DB-WAX UI, signifikante Unterschiede beobachtet. Dies entspricht den Erwartungen aufgrund der unterschiedlichen stationären Phasen (Abb. 3 und 4). Die DB-624 Select UI Säule hatte eine bessere Auflösung für kritische Analyten der Lösemittelklasse 1 (Tetrachlorkohlenstoff). Die DB-Wax UI Säule hatte eine bessere Auflösung für Xylolisomere der Klasse 2A. Dies unterstreicht die Vorteile der gleichzeitigen Analyse auf beiden Säulen. DB-624 Select UI (mit besserer Leistung für Klasse 1) und DB-WAX UI (mit besserer Leistung für Klasse 2A) können in einem System kombiniert und zur Analyse genutzt werden. So wird die Chromatographie für beide Klassen optimiert.

Das letzte Beispiel für die Vorteile einer Zwei-Säulen-Konfiguration kommt aus der Restlösemittel-Klasse 2B gemäß USP <467>. Nitromethan hat eine niedrige Response und eine nichtsymmetrische Peakform nach Trennung mit der DB-624 Select UI Säule (Abb. 5, Peak 2). Bei der DB-WAX UI Säule sind die Peakform und die Response jedoch besser (Abb. 6). Im Vergleich der DB-624 Select UI und der DB-WAX UI Säule schlägt sich dies auch als Verbesserung der Flächen-RSD für Nitromethan nieder.

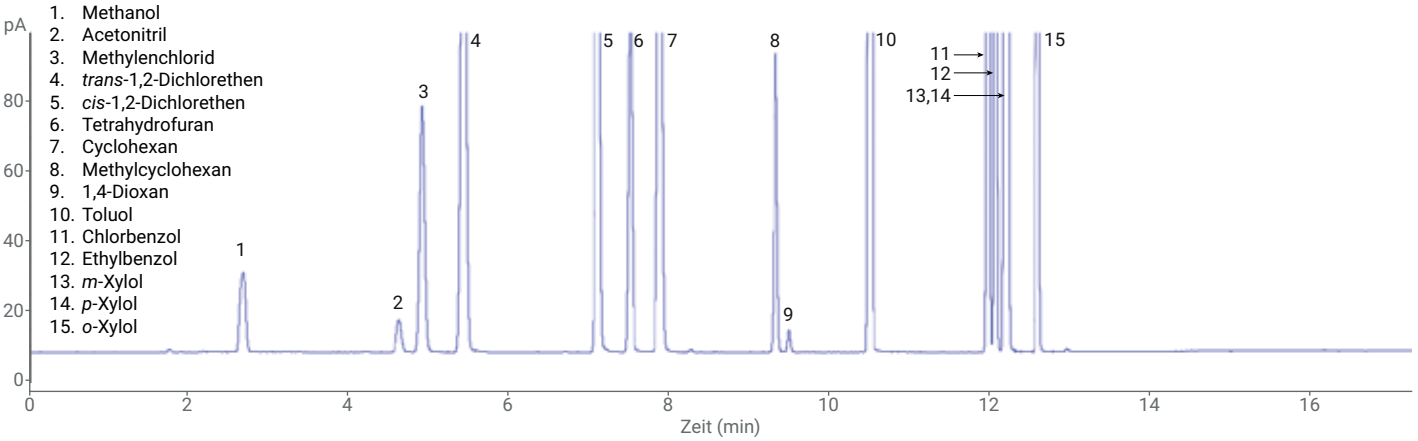


Abbildung 3: Bei der Analyse von Restlösemitteln der Klasse 2A mit einer Agilent DB-624 Select UI werden hervorragende Peakformen beobachtet.

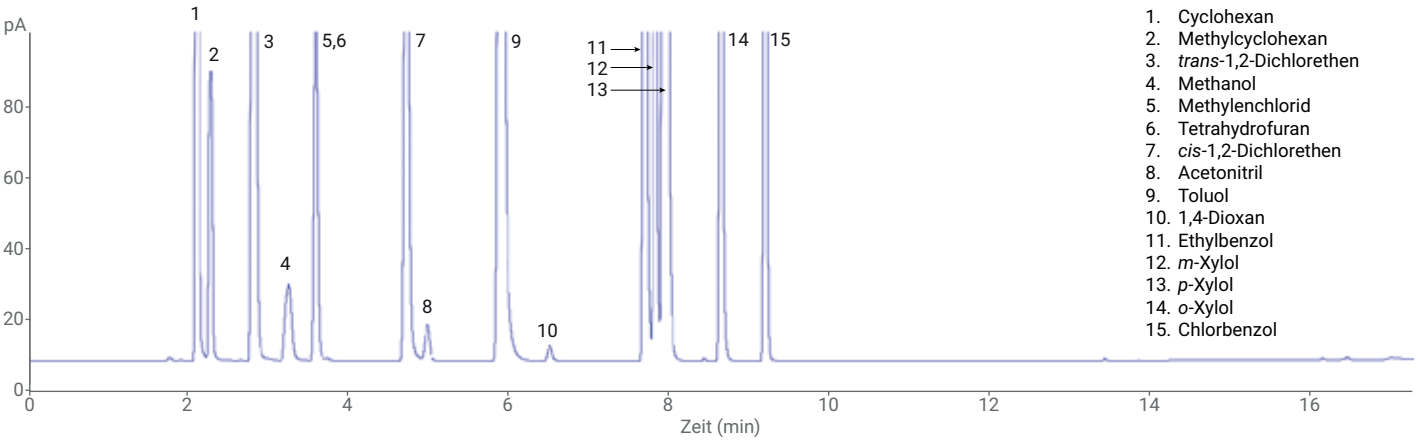


Abbildung 4: Bei der Analyse von Restlösemitteln der Klasse 2A mit einer Agilent DB-WAX UI ändert sich die Elutionsreihenfolge.

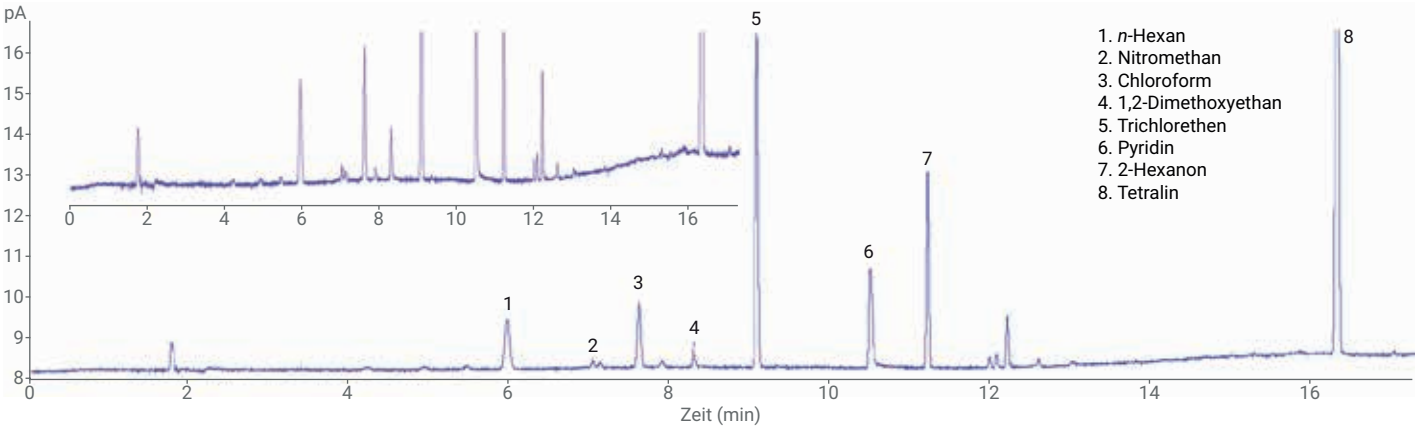


Abbildung 5: Bei der Analyse von Restlösemitteln der Klasse 2B mit einer Agilent DB-624 Select UI werden bei unterschiedlichen Response-Stärken hervorragende Peakformen beobachtet.

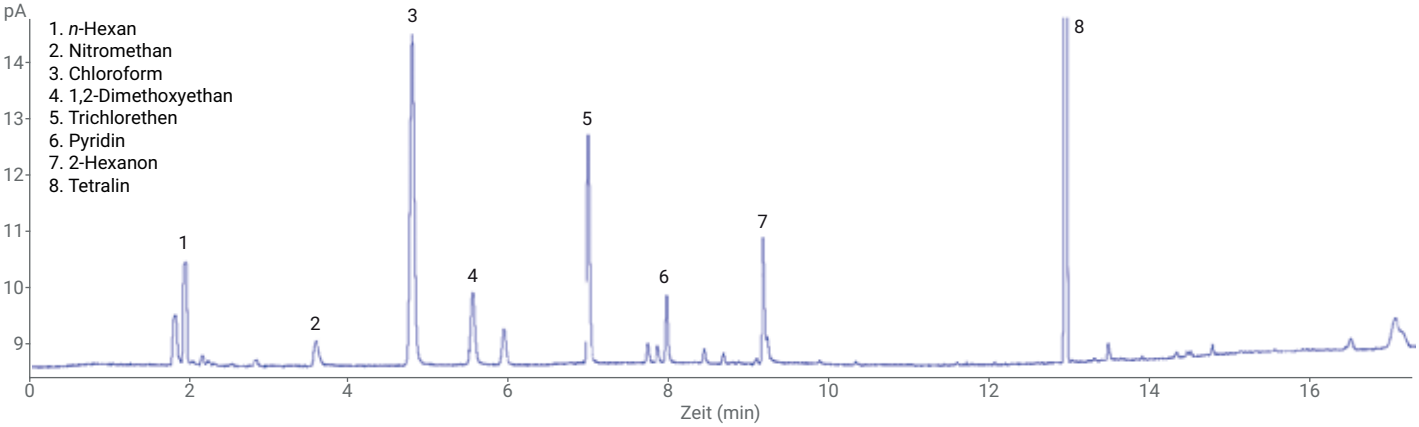


Abbildung 6: Bei der Analyse von Restlösemittel der Klasse 2B mit einer Agilent DB-WAX UI ist die Peakform für Nitromethan besser.

Schlussfolgerungen

Das Agilent Intuvo 9000 GC-System mit Agilent 7697A Headspace-Probengeber in einer Zwei-Säulen-/Zwei-FID-Konfiguration sorgt für eine hervorragende Reproduzierbarkeit. Die mit diesem System erzielten Ergebnisse und die zuvor veröffentlichten Ergebnisse für USP <467>, die von herkömmlichen Ein-Säulen-GC-Systemen stammen, stimmen überein.[2,3] Die Flächengenauigkeit für neun Headspace-Probenflaschen lag bei 5 % oder darunter, und die Retentionszeit-Reproduzierbarkeit bei 0,2 % oder darunter.

Die Bewertung von Restlösemitteln gemäß USP <467> mit einem Zwei-Säulen-System ist mit weiteren Vorteilen verbunden. Die Auflösung von Restlösemitteln der Klasse 1 war bei der Agilent DB-624 Select UI Säule am besten, die Xylolisomere der Klasse 2A konnten mit der Agilent DB-WAX UI vollständig aufgelöst werden. Dank einer Konfiguration des Intuvo 9000 GC-Systems mit einem Einlass-Splitter können Analysen mit beiden Säulen gleichzeitig durchgeführt und die chromatographischen Verbesserungen, die sich durch zwei stationäre Phasen ergeben, genutzt werden. Diese Konfiguration macht die Analyse der Proben mit zwei unterschiedlichen Systemen und Säulen überflüssig, womit die Gesamtanalysendauer u. U. um die Hälfte verkürzt werden kann.

Der 7697A Headspace-Probengeber in Kombination mit dem Intuvo 9000 GC-System, ausgestattet mit einem Einlass-Splitter für die gleichzeitige Analyse mit zwei Säulen und zwei FID, ist eine robuste und unkomplizierte Methode für die Analyse von Restlösemittel gemäß USP <467> bei verkürzter Analysendauer.

Literatur

1. USP 40, allgemeines USP-Kapitel „<467> Residual Solvents“, https://hmc.usp.org/sites/default/files/documents/HMC/GCs-Pdfs/c467.pdf (Zugriff im Oktober 2017).
2. Firor, R. L. Analysis of USP <467> Residual Solvents with Improved Repeatability using the Agilent 7697A Headspace Sampler (englisch), *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 (englisch), *Agilent Technologies Application Note*, 5991-1834EN, Januar **2013**.

www.agilent.com/chem/intuvo

Änderungen vorbehalten.

© Agilent Technologies, Inc. 2018

Veröffentlicht in den USA, 23. Februar 2018
5991-9029DEE

Agilent
Trusted Answers