

Verwendung eines ELS-Detektors zur Bestimmung des Eindampfdruckstandes von Spül-Lösungsmitteln

Michelle Bucher

Bachelorarbeit 2011
Molecular Life Sciences 2008, Chemie

KURZZUSAMMENFASSUNG (ABSTRACT)

Es wurde getestet ob sich der ELS-Detektor (Lichtstreuendetektor) eignet, um Rückstände von Spül-Lösungsmitteln zu bestimmen. Eine anhand von Saccharose entwickelte Methode wurde validiert. Linearität, Reproduzierbarkeit und LOQ waren in Ordnung für Rapamycin als Testsubstanz. Die Reproduzierbarkeit über längere Zeit stellte ein Problem dar, da die Peakflächen stark variierten. Durch Wechsel von einem Sedex 75 auf ein Sedex 85 ELSD und die Massnahme dass aus einem Vial jeweils nur eine Injektion gemacht wurde, um Verschleppungen zu vermeiden, konnte die rel. Standardabweichung der Flächen stark verbessert werden.

AUFGABENSTELLUNG

Es soll getestet werden, ob sich der ELSD eignet, um die Apparate-
reinigung bei einem Produktwechsel zu überwachen. Dazu müssen
verschiedene Substanzen in unterschiedlichen Spül-Lösungsmitteln
analysiert werden können.

Die bisher verwendeten Methoden dauern lange und/ oder sind
teuer. Die Bestimmung mit dem ELSD sollte kürzer sein (max. 10
min.) und eine tiefere Bestimmungsgrenze (1 mg/L) zulassen, als
die bis jetzt verwendeten Methoden (10 mg/L) es ermöglichen.

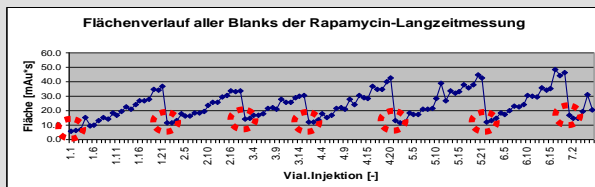
Angestrebt wird eine Analysenzeit von max. 10 min. und eine
Bestimmungsgrenze von 1 mg/L.
Als Spülmittel kommt hauptsächlich Methanol, aber auch Essigester,
Ethanol, Isopropanol, Aceton, DMF und Wasser vor. Rückstände in
den Apparaturen sind typischerweise die verwendeten pharma-
zeutischen Wirkstoffe, technische Verunreinigungen wie Schmieröle,
Heiz-/Kühlmittel, Salze und Detergenzien auf.
Entwickelt werden soll eine möglichst einfache und allgemeine
Methode.

RESULTATE

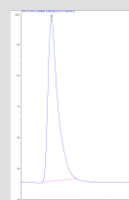
Die Methode, welche für Saccharose optimiert wurde, konnte auch
für andere Substanzen ohne Problem angewendet werden.
Bei Substanzen mit kleiner Molmasse ist die Intensität kleiner als bei
Substanzen mit grossen Molmassen. Dies hat einen Einfluss auf die
Empfindlichkeit mit welcher eine Substanz detektiert werden kann.
Die Methode wurde mit Rapamycin als Testsubstanz validiert und
erfüllte für die Linearität, sowie die Reproduzierbarkeit alle Kriterien.
Der LOQ wurde anhand der Validierung bestimmt und stellte sich
als 0.5 µg/mL heraus.

Wenn die Reproduzierbarkeit über verschiedene Sequenzen, die zu
verschiedenen Zeiten an verschiedenen Tagen gelaufen ist
beobachtet wird, so ist diese deutlich schlechter als in der
Validierung. Die relative Standardabweichung (RSD %) ist sehr
schlecht, da die Peakflächen stark variieren.

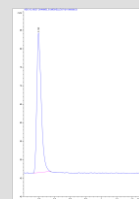
Mittels Langzeitmessungen über mehrere Tage mit vielen
Messwerten konnten die besten Aussagen gemacht werden. So
wurde auch festgestellt, dass es zu einer Verschleppung kommt,
wenn mehrmals aus demselben Vial injiziert wird. In der Grafik sind
alle Blankmessungen der Langzeitmessung dargestellt. Man sieht,
dass die Peakfläche stetig ansteigt, solange aus dem gleichen Vial
injiziert wird. Wird ein neues Vial verwendet (rote Kreise) ist die
Fläche wieder markant tiefer.



Auf Grund der gemachten Beobachtung, wurde entschieden, dass
pro Vial nur eine Injektion gemacht wird. Durch diese Massnahme
konnte der RSD % verbessert werden.
Eine zusätzliche Verbesserung des RSD % wurde erzielt, als auf ein
neueres Modell des ELSD gewechselt wurde. Die ersten Messungen
wurden auf einem Sedex 75 gemacht, später wurde auf ein Sedex
85 gewechselt. Beide Geräte sind von Sedere.
Die Peakform unterscheidet sich zwischen Messungen von diesen
beiden Modellen. Das neuere Modell lieferte schmalere Peaks und
die Symmetrie war ebenfalls besser. Die Fläche ist allerdings etwas
kleiner bei gleicher Konzentration.



Sedex 75



Sedes 85

Durch diese zusätzliche Massnahmen konnte der RSD % nochmals
verbessert werden, so dass es nun sehr gut aussah.
Für Rapamycin und Saccharose ist es möglich Konzentrationen von
5 µg/mL quantitativ zu bestimmen. Konzentrationen von 3 µg/mL
können eventuell sogar auch noch quantitativ nachgewiesen
werden, dazu müssten aber noch weitere Messungen gemacht
werden.

SCHLUSSFOLGERUNG

Es konnte eine Methode entwickelt und validiert werden, auf welcher
nun aufgebaut werden kann. Der genaue Anwendungsbereich der
Methode wurde noch nicht eruiert, Vortests lieferten aber gute Infos.

Es wird eine Runtime von 3 min erhalten und für Rapamycin bzw.
Saccharose konnten Bestimmungsgrenzen von 5 µg/mL eventuell
sogar 3 µg/mL erhalten werden.
Detergenzien und Öle können ebenfalls detektiert werden.

AUFTRAGGEBER

Novartis Pharma AG
CH-4056 Basel



BEGLEITDOZENT: Prof. Dr. Götz Schlotterbeck

EXPERTEN/EXPERTIN: Prof. Dr. Markus Ehrat