

Erlaubte Änderungen in HPLC Methoden aus der Europäischen Pharmakopöe (Ph.Eur.)

11. Edition

Eine Vielzahl verschiedener Faktoren können Ergebnisse beeinflussen, die unterschiedliche Labore mit den gleichen Methoden bestimmen. Beispielsweise spielen Unterschiede im Systemverweilvolumen von HPLC-Systemen verschiedener Marken oder Hersteller eine Rolle, die zu Änderungen in der Trenneffizienz und so der Auflösung führen können.

Auch verschiedene stationäre Phasen zeigen starke Unterschiede ihrer chromatographischen Eigenschaften durch Variation in Packungsqualität, spezifische Oberfläche und Oberflächenbeladung, Porengröße, als auch Partikelform und -Einheitlichkeit, selbst wenn die Materialien formal zur gleichen Klasse gehören (z.B. C18).

Aus diesen Gründen ist es Laboratorien erlaubt Änderungen in den Parametern ihrer isokratischen und Gradiententrennungen durchzuführen um ihre Analysen auf ihre Bedingungen zu optimieren, Reproduzierbarkeit und Produktivität zu erhöhen oder eine Trennung der Analyten erst möglich zu machen. Ebenso kann die Trennsäule gegen eine Alternative mit gleicher Klassifizierung ausgetauscht werden, z.B. die herkömmliche C18 Säule gegen eine modernere C18 Phase eines anderen Herstellers.

Wir stellen hier eine hilfreiche Übersicht der erlaubten Änderungen in HPLC Methoden der europäischen Pharmakopöe (European Pharmacopoeia, Chapter 2.2.46) für Ihre Arbeit zur Verfügung:

Isokratische Elution

Säulenlänge (L)/Partikelgröße (d_p)	-25% bis +50% vom ursprünglichen L/ d_p Verhältnis
Innerer Durchmesser der Säule	<i>Kann angepasst werden</i>
Flussrate	± 50% bezogen auf lineare Flussrate bei gegebenen Säulen ID und Partikelgröße (d_p)
Injektionsvolumen	<i>Kann reduziert werden, solange Systemeignungs-Kriterien in akzeptablen Grenzwerten verbleiben</i>
Zusammensetzung der mobilen Phase	± 30% (relativ für das im Unterschuss eingesetzte Lösemittel)/ nicht mehr als ± 10% absolut
pH der mobile Phase	± 0.2 pH Einheiten
Pufferkonzentration	± 10%
Säulentemperatur	± 10 °C
Detektionswellenlänge	<i>Keine Änderung erlaubt</i>

Gradient Elution

Säulenlänge (L)/Partikelgröße (d_p)	-25% bis +50% vom ursprünglichen L/ d_p Verhältnis
Innerer Durchmesser der Säule	<i>Kann angepasst werden</i>
Flussrate	<i>Anpassung erlaubt um lineare Fließgeschwindigkeit bei neuem Säulen ID zu erhalten</i>
Gradientenvolumen	<i>Gradientenzeiten für jedes Gradientenstufen-Volumens um konstantes Verhältnis zwischen Gradientenvolumen und Säulenvolumen zu erhalten</i>
Injektionsvolumen	<i>Kann reduziert werden, solange Systemeignungs-Kriterien in akzeptablen Grenzwerten verbleiben</i>
Zusammensetzung der mobilen Phase	<i>Kleine Änderungen erlaubt wenn Systemeignungsvoraussetzungen erreicht werden, die Retentionszeiten der Hauptsignale in einem Bereich von ± 15% liegen (Voraussetzung trifft nicht zu wenn Säulendimensionen verändert werden), die ersten Signale ausreichend getrennt sind und alle Peaks eluieren</i>
pH der mobile Phase	± 0.2 pH Einheiten
Pufferkonzentration	± 10%
Säulentemperatur	± 5 °C
Detektionswellenlänge	<i>Keine Änderung erlaubt</i>
System-Verweilvolumen	<i>Gradientenzeitpunkte können angepasst werden um Unterschiede zwischen Systemen zu kompensieren</i>