

| | | | |
|--|---|--|---------------|
| Pharmafirma | Qualifizierungsplan (OQ) | | Seite 1 von 7 |
| QP-0815-4711 | HPLC-Anlage | | XX.XX.2009 |
| Inhalt | | | |
| <ol style="list-style-type: none"> 1. HPLC-Pumpe (2-Kanal Gradient) <ol style="list-style-type: none"> 1.a Überprüfung der Flussrate 1.b Überprüfung der Gradientenzusammensetzung und des Rauschens des Gradientenmischers 2. HPLC-Injektor 3. HPLC-Autosampler <ol style="list-style-type: none"> 3.a Richtigkeit der Temperierung 3.b Präzision der Temperierung 4. HPLC-Ofen/Kühlung 5. HPLC-UV/DAD-Detektor <ol style="list-style-type: none"> 5.a Linearität 5.b Überprüfung der Wellenlängengenauigkeit | | | |
| 1. HPLC-Pumpe (2-Kanal Gradient) Überprüfung der Flussrate und der Gradientenzusammensetzung | | | |
| 1.a Überprüfung der Flussrate | | | |
| Materialien | 5 oder 10 ml Messkolben, kalibrierte Stoppuhr | | |
| Einstellungen | Mobile Phase | entgastes Wasser | |
| | Säule | keine (offenes Ende), bei manchen Systemen kann insbesondere bei kleinen Flussraten der Einsatz einer Säule oder einer Restriktionskapillare erforderlich sein, um Rückdruck auf die Pumpe zu geben. | |
| Durchführung | Es wird eine geeignete Flussrate eingestellt und die Zeit gemessen, bis der Messkolben bis zur Marke gefüllt ist. Es ist sinnvoll, mehrere verschiedene Flussraten zu überprüfen, man orientiert sich dabei am Praxiseinsatz des Detektors. | | |
| Berechnung | $f = \frac{V \times 60}{t}$ | f gemessene Flussrate [ml/min] t benötigte Zeit zum Befüllen des Messkolbens bis zur Marke [s] V Volumen des Messkolbens [ml] | |
| | $D = 100 \times \frac{f - F}{F}$ | D Abweichung [%] F eingestellte Flussrate [ml/min] f gemessene Flussrate [ml/min] | |
| | Akzeptanzkriterium | ±5% | |

Abbildung 14.C-7 Beispiel für Qualifizierungsplan (OQ) einer HPLC-Anlage

| Pharmafirma | Qualifizierungsplan (OQ) | | Seite 2 von 7 |
|--|---|---|---------------|
| QP-0815-4711 | HPLC-Anlage | | XX.XX.2009 |
| 1.b Überprüfung der Gradientenzusammensetzung und des Rauschens des Gradientenmischers | | | |
| Einstellungen | Stahlkapillare | z. B. 2000 x 0,12 mm anstelle einer Säule | |
| | Detektion | UV-Detektor 265 nm | |
| | Mobile Phase A | entgastes Wasser | |
| | Mobile Phase B | entgastes Wasser mit 0,5% Aceton | |
| | Flussrate | 1,0 ml/min | |
| Durchführung | Bei Mehrkanalsystemen werden alle Kanäle geprüft, bei einem Dreikanal-System also z. B. A–B und A–C, bei einem Vierkanal-System z. B. A–B, A–C und B–D. | | |
| Gradientenprogramm | | | |
| Zeit [min] | % mobile Phase A (Wasser) | % mobile Phase B (Wasser mit 5% Aceton) | |
| 0,0 | 100 | 0 | |
| 0,1 | 90 | 10 | |
| 10 | 90 | 10 | |
| 10,1 | 50 | 50 | |
| 20 | 50 | 50 | |
| 20,1 | 10 | 90 | |
| 30 | 10 | 90 | |
| 30,1 | 0 | 100 | |
| 40 | 0 | 100 | |
| 40,1 | 100 | 0 | |
| Zu Beginn wird das System mit Wasser für mindestens 10 Minuten equilibriert. Die Basislinie zu Beginn der Prüfung ist der 0%-Wert. Bei allen Schritten wird die Höhe der Linie zu Beginn des horizontal liegenden Teils entweder elektronisch oder mit einem Lineal ausgemessen. Die Höhe der Linie „100% mobile Phase B“ ist der 100% Wert (H) in der folgenden Berechnung: | | | |

Abbildung 14.C-7 Beispiel für Qualifizierungsplan (OQ) einer HPLC-Anlage

| | | |
|---|-------------------------------------|---|
| Pharmafirma Qualifizierungsplan (OQ) | | Seite 3 von 7 |
| QP-0815-4711 HPLC-Anlage | | XX.XX.2009 |
| Berechnung | $\%H = 100 \times \frac{h}{H}$ | %H berechnete Zusammensetzung h Höhe der gemessenen Linie H Höhe der „100% mobile Phase B“-Linie |
| | $d = \%H - G$ | d Abweichung G eingestellte Gradientenzusammensetzung [% mobile Phase B] |
| | Akzeptanzkriterium | absolute Abweichung $\pm 2\%$ des eingestellten Wertes |
| Das Rauschen des Gradientenmischers ist der %-Anteil des Rauschens bezogen auf die 50%-Linie der Gradientenzusammensetzung: | | |
| Berechnung | $\%R = 100 \times \frac{N}{h_{50}}$ | %R Rauschen h ₅₀ Höhe der 50% Linie N Höhe des Rauschens, gemessen über 1 Minute im linearen Bereich |
| | Akzeptanzkriterium | $\leq 2\%$ |
| 2. HPLC-Injektor | | |
| Beim HPLC-Injektor werden die Volumenpräzision und der „carry-over“ geprüft: | | |
| Lösungen | Solvent A | Methanol/Wasser, 60/40 |
| | Referenzlösung (a) | je 15,0 mg Methyl-, Ethyl- und Propylparaben in 100,0 ml Solvent A lösen. |
| | Referenzlösung (b): | 1,0 ml Referenzlösung (a) werden auf 10,0 ml mit Solvent A verdünnt. |
| | Referenzlösung (c) | 1,0 ml Referenzlösung (b) werden auf 100,0 ml mit Solvent A verdünnt. |
| Einstellungen | Säule | LiChrospher® 100 RP8, 5 µm, 125 x 4 mm, ohne Vorsäule |
| | Mobile Phase | Methanol/Wasser, 60/40 |
| | Flussrate | 1,0 ml/min |
| | Detektion | 254 nm |
| | Injektionsvolumen | 20 µl |

Abbildung 14.C-7 Beispiel für Qualifizierungsplan (OQ) einer HPLC-Anlage

| | | | |
|--|---|--|---------------|
| Pharmafirma | | Qualifizierungsplan (OQ) | Seite 4 von 7 |
| QP-0815-4711 | | HPLC-Anlage | XX.XX.2009 |
| Durchführung | Injektionsschema | 6 x Referenzlösung (b) 1 x Referenzlösung (a) 1 x Solvent A (Blank 1) 1 x Referenzlösung (b) 1 x Solvent A (Blank 2) 1 x Referenzlösung (c) | |
| Akzeptanzkriterien | | | |
| Wiederholbarkeit der Peakflächen | Die relative Standardabweichung der Peakflächen aller Peaks im Chromatogramm der Referenzlösung (b) soll $\leq 0,0\%$ sein. | | |
| Carry-over | Die Fläche des Propylparaben-Peaks im Chromatogramm des „Blank 1“ ist nicht größer als 0,5% bezogen auf die zehnfache Peakfläche des Propylparaben-Peaks im Chromatogramm der Referenzlösung (b) nach der „Blank 1“-Injektion. Die Fläche des Propylparaben-Peaks im Chromatogramm der Referenzlösung (c) ist 0,9–1,1% der Peakfläche des Propylparaben-Peaks im Chromatogramm der Referenzlösung (b) nach der „Blank 1“-Injektion. | | |
| 3. HPLC-Autosampler Beim HPLC-Autosampler werden Richtigkeit und Präzision der Temperierung geprüft. Die Prüfung, ob das jeweils richtige Vial injiziert wird, erfolgt im Rahmen der Überprüfung des UV/DAD-Detektors. | | | |
| 3.a Richtigkeit der Temperierung | | | |
| Materialien | kalibrierter Temperaturfühler | | |
| Durchführung | Man stellt eine geeignete Temperatur ein und equilibriert das System über eine ausreichende Zeit. Mithilfe des kalibrierten Thermofühlers wird die aktuelle Temperatur gemessen und mit der eingestellten Temperatur verglichen. Im Rahmen der Qualifizierung werden mehrere, den gesamten praxisrelevanten Bereich umfassende, Temperaturen geprüft. | | |
| Akzeptanzkriterium | Die aktuelle Temperatur weicht nicht mehr als ± 3 °C von der eingestellten Temperatur ab. | | |

Abbildung 14.C-7 Beispiel für Qualifizierungsplan (OQ) einer HPLC-Anlage

| | | |
|--|--|---------------|
| Pharmafirma | Qualifizierungsplan (OQ) | Seite 5 von 7 |
| QP-0815-4711 | HPLC-Anlage | XX.XX.2009 |
| 3.b Präzision der Temperierung | | |
| Materialien | kalibrierter Temperaturfühler | |
| Durchführung | Man stellt eine geeignete Temperatur im zu überprüfenden Temperaturbereich ein und equilibriert das System über eine ausreichende Zeit. Mithilfe des kalibrierten Thermofühlers wird die aktuelle Temperatur n-Mal über eine vorgegebene Zeitspanne gemessen. Der Mittelwert der n Messungen wird mit der eingestellten Temperatur verglichen. | |
| Akzeptanzkriterium | Die aktuelle Temperatur weicht nicht mehr als ± 3 °C von der eingestellten Temperatur ab. | |
| 4. HPLC-Ofen/Kühlung | | |
| Beim HPLC-Ofen/Kühlung wird die Richtigkeit der Temperierung überprüft. | | |
| Materialien | kalibrierter Temperaturfühler | |
| Durchführung | Die Säulenofentemperatur wird auf 40 °C eingestellt. Nach 30 Minuten Equilibrierzeit wird der kalibrierte Thermofühler in den Ofen eingebracht, die Temperatur wird nach weiteren 10 Minuten abgelesen. | |
| Akzeptanzkriterium | Die gemessene Temperatur muss zwischen 38 °C und 42 °C liegen. | |
| 5. HPLC-UV/DAD-Detektor | | |
| <p>Anmerkung des Autors: Die Bezeichnung „DAD-Detektor“ ist eigentlich so nicht richtig, da DAD (=diode array detector) das Wort „Detektor“ schon beinhaltet. Richtig wäre damit „DA-Detektor“. Da die Bezeichnung DAD-Detektor im Sprachgebrauch aber fest verankert ist und auch in offiziellen Dokumenten (z.B. der OMCL Richtlinie) vorkommt, wird dieser im Folgenden auch so verwendet.</p> <p>Beim UV/DAD-Detektor werden Linearität und Wellenlängenrichtigkeit überprüft.</p> | | |

Abbildung 14.C-7 Beispiel für Qualifizierungsplan (OQ) einer HPLC-Anlage

| | | | |
|--|---|---|---------------|
| Pharmafirma | Qualifizierungsplan (OQ) | | Seite 6 von 7 |
| QP-0815-4711 | HPLC-Anlage | | XX.XX.2009 |
| 5.a Linearität | | | |
| Standardlösungen | Std. 1: 0,5 µg Coffein/1 ml Methanol (HPLC grade) Std. 2: 1,0 µg Coffein/1 ml Methanol (HPLC grade) Std. 3: 5,0 µg Coffein/1 ml Methanol (HPLC grade) Std. 4: 25,0 µg Coffein/1 ml Methanol (HPLC grade) Std. 5: 50,0 µg Coffein/1 ml Methanol (HPLC grade) Std. 6: Methanol HPLC grade (blank) | | |
| Herstellung der Standardlösungen | Std. 5: 9,0 bis 11,0 mg Coffein werden eingewogen und mit Methanol (HPLC grade) auf 200,0 ml aufgefüllt Std. 4: 50,0 ml Std. 5 werden mit Methanol (HPLC grade) auf 100,0 ml verdünnt. Std. 3: 10,0 ml Std. 5 werden mit Methanol (HPLC grade) auf 100,0 ml verdünnt. Std. 2: 20,0 ml Std. 3 werden mit Methanol (HPLC grade) auf 100,0 ml verdünnt. Std. 1: 10,0 ml Std. 3 werden mit Methanol (HPLC grade) auf 100,0 ml verdünnt. | | |
| Einstellungen | Säule | RP-18 5 µm, 30–50 x 2,1–4,6 mm oder Kapillare 2000 mm x 0,12 mm ID | |
| | Mobile Phase | Methanol HPLC grade | |
| | Ofentemperatur | 40 °C | |
| | Flussrate | 1,0 ml/min (eingestellt mit 100% Methanol) | |
| | Detektion | 273 nm | |
| | Injektionsvolumen | 20 µl | |
| Durchführung | Injektionsschema | 2 x Blank 1 x Std. 1 1 x Std. 2 1 x Std. 3 1 x Std. 4 1 x Std. 5 | |
| Akzeptanzkriterium | | $r^2 \geq 0,999$ | |
| Anmerkung: Da bei dieser Prüfung verschiedene Lösungen injiziert werden, dient sie gleichzeitig der Feststellung, ob der Autosampler die jeweils richtigen Vials auswählt. | | | |

Abbildung 14.C-7 Beispiel für Qualifizierungsplan (OQ) einer HPLC-Anlage

| | | |
|--|---------------------------------|---|
| Pharmafirma | Qualifizierungsplan (OQ) | Seite 7 von 7 |
| QP-0815-4711 | HPLC-Anlage | XX.XX.2009 |
| 5.b Überprüfung der Wellenlängengenauigkeit | | |
| Wenn es im HPLC-System interne Methoden zur Überprüfung der Wellenlängen gibt, können diese eingesetzt werden. In den anderen Fällen kann die unten beschriebene Vorgehensweise verwendet werden. | | |
| Lösungen | DAD | Coffein Std. 5 aus der Prüfung auf Linearität |
| | UV/VIS | 1,0 µg/ml Anthracen-Lösung in Wasser |
| Einstellungen | Mobile Phase | 15% Acetonitril in Wasser |
| | Säule | RP18, 5 µm, 30–50 x 2,1–4,6 mm oder Kapillare 2,0 m x 0,12 mm ID |
| | Ofentemperatur | 40 °C |
| | Flussrate | 1,0 ml/min (eingestellt mit 15% Acetonitril in Wasser) |
| | Detektion | Scan von 230 nm bis 290 nm (DAD) |
| | Injektionsvolumen | 20 µl |
| Durchführung | DAD | 20 µl der Coffein-Lösung werden injiziert und das Spektrum aufgenommen. Das Maximum liegt bei 272 nm, das Minimum bei 244 nm. |
| | UV/VIS | Die Zelle wird mit der Anthracen-Lösung gefüllt und die Wellenlänge von 248 nm auf 254 nm in 1 nm Schritten verändert. Das Maximum der Absorption wird ermittelt. Der theoretische Wert liegt bei 251 nm. |
| | Akzeptanzkriterium | ±2 nm |
| <p>Anmerkung: In der Richtlinie sind ferner Prüfungen für folgende, weitere Detektoren zu finden:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Fluoreszenz-Detektor • elektrochemischer Detektor • Brechungsindex-Detektor • Zirkulardichroismus-Detektor • MS-Detektor (Ion-Trap) • Quadrupol-MS-Detektor (API-ESI) | | |

Abbildung 14.C-7 Beispiel für Qualifizierungsplan (OQ) einer HPLC-Anlage