



## **UHPLC-UV módszer validálása UXYZ kódú állatgyógyászati hatóanyag analitikai meghatározására**

**Készítette: Sipkai Elza**

Élelmiszerbiztonsági és -minőségi mérnöki szak, mesterképzés, levelező munkarend

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem  
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet  
Élelmiszerkémia és Analitika Tanszék

Belső konzulens: Marczika Andrásné dr. Sörös Csilla  
egyetemi docens  
MATE, Budai Campus, Élelmiszertudományi és  
Technológiai Intézet, Élelmiszerkémia és Analitika Tanszék

Külső konzulens: Benesóczki Dóra  
Minőségellenőrzési Osztályvezető  
Lavet Gyógyszeripari Kft.

**Budapest**

**2024.**

## ÖSSZEFOGLALÁS

A HPLC-UV módszer validálása UXYZ kódú állatgyógyászati hatóanyag esetén sikeres volt, hiszen a validálási minőségjellemzők mérése során az eredmények megfelelnek a követelményeknek. A validálás során nem akadtam előre nem látható problémákba, sokat segített, hogy előre átgondoltam, hogyan szeretném megvalósítani a méréseket és milyen eredményeket várok. Az UXYZ kódú hatóanyagtartalom az általam használt termékből minden esetben a várt kihozattal hozta és a rendszeralkalmassági követelményeknek is megfelelt.

Validálás során vizsgáltam a szelektivitást, amely vizsgálat során a szennyezők elváltak az UXYZ kódú hatóanyagtól és vizsgáltam a specifikusságot is, amely során különböző körülmények között kezeltem a standard, minta és placebo oldatokat. A vizsgálat során a hatóanyagtartalom mennyiségében látható változás, de a csúcstisztaság és azonosság mindegyik esetben a követelménynek megfelel. Linearitás során a 70-130%-os koncentráció tartományban mért csúcsterületek lineárisan változnak a koncentrációval, az egyenes egyenletéből számított  $R^2$ , a Z értéke és az RSD% is megfelel a követelményeknek. A pontosság mérésekor ugyanabból a sarzsból készített hat párhuzamos mintának az RSD%-át, míg a közbenső pontosságnál a pontossághoz hasonlítottam másik analitikus által elkészített hat párhuzamos mérést. A pontosságnál az RSD%-ot vizsgáltam, amely megfelel a követelménynek, a közbenső pontosságnál a 12 párhuzamos minta hatóanyag átlag relatív eltérését vizsgáltam, amely szintén megfelelt a követelménynek. A torzítatlanság vizsgálatánál a hatóanyagot 70%-os, 100%-os és 130%-os szinten vizsgáltunk és a vizsgálat során kapott RSD% és visszanyerés értéke is megfelel a követelményeknek. Validáció során néztem még az oldatstabilitást, vizsgáltam a standard és mintaoldatokat is különböző hőmérsékleten. A relatív eltérés a standard esetén hét napig felel meg a követelményeknek szoba-, illetve hűtő (2-8°C) hőmérsékleten, az UHPLC készülékben hat napig felel meg az elvárt RSD%. A mintaoldat hat napig felel meg a követelményeknek mindhárom körülményen. Emellett vizsgáltam még az eluensek stabilitását, mivel minden mérés során teljesült a rendszeralkalmassági követelmény és a vizuális vizsgálat során sem tapasztaltam eltérést az eluenseket tartalmazó üvegekben, ezért ezeknek a stabilitása a vizsgálat során végig megfelelő volt, vagyis hét napig. Végül vizsgáltam a módszer robusztusságát, ahol különböző paramétereket maximum 20%-ban változtattam meg az eredetihez képest. A rendszeralkalmassági követelmények itt is minden esetben teljesültek. Ezeket az eredményeket a **1. táblázat**ban számszerűen is összefoglaltam.

Úgy gondolom, hogy a validálásommal segítettem a későbbi rutinméréseket, egyszerű és gyors módszert validáltam, amelyet több UHPLC készüléken is lehet mérni megfelelő pontossággal. A mintaelőkészítés nem bonyolult, ahogy maga a hatóanyagtartalom mérése sem. Továbbá ami nagyon fontos a mindennapi munkám során, hogy az eredményeket dokumentálni kell, tehát az UHPLC méréseket ki is kell értékelni, azonban ez is egyszerűen és gyorsan megvalósítható.

<b>Teljesítményjellemző</b>	<b>Követelmény</b>	<b>Eredmény</b>
<i>Szelektivitás</i>  <i>Specifikusság</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Szennyezőcsúcsok elválaszthatóak az UXYZ kódú hatóanyagtól</li> <li>▪ Csúcs tisztaság <math>\geq 0,95</math></li> <li>▪ Azonosság <math>\geq 0,095</math></li> </ul>	<p>A szennyezőcsúcsok elválaszthatóak (zavarójel <math>&lt; 0,5</math>)</p> <p>Csúcs tisztaság <math>\geq 0,95</math> Azonosság <math>\geq 0,095</math></p>
<i>Linearitás</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <math>R^2 \geq 0,998</math></li> <li>▪ <math>Z \leq 3,0\%</math></li> <li>▪ <math>RSD\% \leq 2,0\%</math></li> </ul>	<p><math>R^2=0,9996</math> <math>Z = 1,4\%</math> <math>RSD\% = 0,6\%</math></p>
<i>Pontosság</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <math>RSD\% \leq 2,0\%</math></li> </ul>	$RSD\% = 0,8\%$
<i>Közbenső pontosság</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Hatóanyag-átlag relatív eltérése <math>\leq 3,0\%</math></li> </ul>	Hatóanyag-átlag relatív eltérése = 1,79%
<i>Torzítatlanság</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <math>RSD\% \leq 2,0\%</math></li> <li>▪ Koncentrációból számított visszanyerés 98,0%-102% közé esik</li> </ul>	<p><math>RSD_{ACC70} = 0,6\%</math> <math>RSD_{ACC100} = 1,4\%</math> <math>RSD_{ACC130} = 0,3\%</math> Visszanyerés: <math>ACC70 = 99,1\%</math> <math>ACC100 = 100,0\%</math> <math>ACC130 = 99,9\%</math></p>
<i>Oldatstabilitás</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Relatív eltérés 0. naphoz viszonyítva <math>\leq 2,0\%</math></li> <li>▪ Eluens fizikai szennyeződéstől mentes</li> </ul>	<p>Standard relatív eltérése a 7. napon Szoba hőmérsékleten = 1,5% Hűtő hőmérsékleten = 0,45% Standard relatív eltérése a 6. napon UHPLC készülékben minta-1 = 1,9% minta-2 = 1,6% Minta relatív eltérése a 6. napon Szoba hőmérsékleten = 0,9% Hűtő hőmérsékleten = 0,3% UHPLC készülékben minta-1 = 0,13% minta-2 = 0,18%</p> <p>Vizuális vizsgálattal 7. napon is megfelel</p>
<i>Robusztusság</i>	<p>UXYZ kódú hatóanyag esetén</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Retenciós idő = 1,0 - 2,5 perc</li> <li>▪ Aszimmetria = 0,8 – 1,8</li> <li>▪ Elméleti tányérszám <math>\geq 800</math></li> </ul>	Eredmények megfelelnek

**1. táblázat:** Validálás során kapott eredmények összefoglalása