



Application Note AN-D-003

Qualitätskontrolle von Dialysekonzentraten

Umfassende Analyse von Anionen, Acetat und Kationen durch IC

Die Hämodialyse ist eine medizinische Behandlung, die zur Lebenserhaltung eingesetzt wird, wenn die Nierenfunktionen nachlassen und die körpereigenen Entgiftungsfähigkeiten der Nieren versagen [1,2]. Dialyseflüssigkeiten (Hämodialyselösungen), bestehend aus Elektrolyten, Puffern und Kohlenhydraten (Glukose), die dem Blut identisch sind, sind ein zentrales Element dieser Behandlung [1,3-5]. Der Diffusionsgradient zwischen dem Blut und der Dialyseflüssigkeit ermöglicht den Abtransport von

Stoffwechselabfällen und die Normalisierung des Elektrolytgehalts [1,2]. Dialyseflüssigkeiten werden durch Zugabe von Konzentraten, die Elektrolyte, Kohlenhydrate und Puffer enthalten, in Wasser hergestellt. Für die Herstellung und Zubereitung vor Ort gelten die höchsten Standards, die z. B. in der Europäischen Pharmakopöe, ISO 11663, ISO 23500 oder ISO 13958 (für Hämodialysekonzentrate) festgelegt sind [1,2,4].

Die Atomabsorptionsspektroskopie (AAS) wird häufig

für die Qualitätskontrolle eingesetzt, ist allerdings nur für die Messung kationischer (metallischer) Komponenten und einer limitierten Anzahl an gleichzeitig bestimmbar Analyten geeignet. Im Gegensatz dazu ist die Ionenchromatographie (IC) eine automatisierte, schnelle und empfindliche Methode, um kationische und anionische Komponenten, einschließlich Acetat, gleichzeitig und präzise zu quantifizieren. Dieser ganzheitliche Ansatz

etabliert die IC als kosteneffiziente Option gegenüber herkömmlichen Analyseverfahren für die Qualitätskontrolle von pharmazeutischen Präparaten wie Hämodialysekonzentraten. Die einfache Handhabung, Genauigkeit und der hohe Durchsatz der IC steigern die Produktivität und erfüllen die Anforderungen moderner Routine- und Forschungslabors.

PROBE UND PROBENVORBEREITUNG

Um toxische Bestandteile durch Diffusion aus dem Blut zu entfernen, muss die Zusammensetzung der Dialyseflüssigkeiten der des Blutplasmas sehr ähnlich sein. Diese Flüssigkeiten bestehen in der Regel aus Wasser, Elektrolyten, die Kationen und Anionen liefern (z. B. Natrium, Kalium, Kalzium, Chlorid), Puffern (z. B. Acetat oder Carbonat) und Kohlenhydraten (z. B. Glukose) [1,3-5]. In diesem Anwendungsbeispiel wurden der Gehalt an Kationen, Anionen und Acetat in zwei Hämodialysekonzentraten analysiert (**Tabelle 1**). Optimale Ergebnisse wurden mit einer Verdünnung im Bereich von 1:500 bis 1:750 unter Verwendung von Reinstwasser (UPW) erzielt.

Die Dialysekonzentrate wurden von der MTN

Neubrandenburg GmbH, einem Unternehmen der Nipro-Gruppe, einem etablierten Hersteller von hochwertigen Hämodialyseprodukten, zur Verfügung gestellt. Diese waren saure Konzentrate (A-Konzentrate) für die Bicarbonatdialyse mit verschiedenen Zusammensetzungen (**Tabelle 1**). Die Produktion dieser Konzentrate erfolgt nach strengen, standardisierten Qualitätsvorgaben wie z. B. ISO 13958, ISO 11663 und ANSI/AAMI RD 61:2000 [1]. Auch für die anderen Komponenten, die für die Herstellung der endgültigen Dialyseflüssigkeit erforderlich sind, darunter Wasser und die Basiskonzentrate (B-Konzentrate) gelten strenge Vorgaben [1,3-5].

VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Die Anionen und Kationen wurden mit einem Zweikanal-IC-System (**Abbildung 1**) unter Verwendung der Leitfähigkeitsdetektion (mit sequentieller Suppression für Anionen) analysiert. Ein

UV/VIS-Detektor (947 Professional UV/VIS-Detektor Vario) kann ebenfalls verwendet werden, um Verunreinigungen durch Nitrit, Nitrat und Bromid in den Konzentraten auszuschließen.

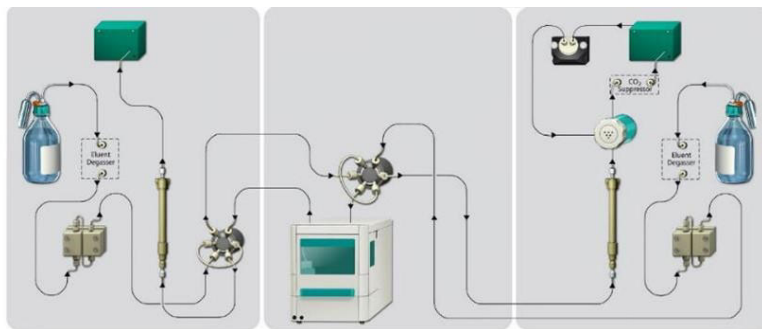


Abbildung 1 Flussweg für ein Zweikanal-IC-System von Metrohm. Die Injektion erfolgte mit dem 889 Sample Center - cool (Mitte). Für den Nachweis von Kationen wurde die nicht suppressierte Leitfähigkeitsdetektion verwendet, während Anionen mit suppressierter Leitfähigkeit und UV (205 nm) nachgewiesen wurden.

Diese Verunreinigungen können selbst neben hohen Chloridkonzentrationen mit hoher Präzision und Empfindlichkeit bestimmt werden (Tabelle 1). Leistungstests der Methode mit Nitrat und Nitrit dotierten Konzentraten ergaben Wiederfindungsraten von 90-110 %.

Tabelle 1. Zusammensetzung (Durchschnitt und Bereich) von zwei getesteten Hämodialyse-Säurekonzentraten (A-Konzentrate) nach Angaben des Herstellers.

A-Konzentrat	#293	#570
Natrium (mol/L)	3,61 (3,51–3,70)	4,64 (4,52–4,75)
Kalium (mmol/L)	70,00 (66,50–73,50)	90,00 (85,50–94,50)
Magnesium (mmol/L)	17,50 (16,63–18,37)	22,50 (21,38–23,62)
Calcium (mmol/L)	52,50 (49,88–55,12)	56,25 (53,44–59,06)
Chlorid (mol/L)	3,82 (3,62–4,01)	4,88 (4,64–5,13)
Essigsäure (mol/L)	0,11 (0,10–0,11)	0,14 (0,13–0,14)
Glukose (g/L)	35,00 (33,25–36,75)	45,00 (42,75–47,75)

Das gesamte System (**Abbildung 1**) wurde mit Hilfe der Software EmpowerTM 3 von Waters gesteuert. Ein gekühlter Autosampler (889 IC Sample Center - cool) wurde verwendet, um die Stabilität der stark verdünnten Proben zu erhöhen.

Die Anionen wurden mit der Metrosep A Supp 19 - 150/4.0 Säule (Standardeluent und Flussrate, **Abbildung 2 A, C**) getrennt. Diese hochkapazitive IC-Säule zeichnet sich durch eine hervorragende

Trennleistung aus, auch bei stark belasteten Matrices. Die einzigartigen Eigenschaften der Metrosep A Supp 19-Säule ermöglichen eine adäquate Trennung und Quantifizierung von Acetat auch in Gegenwart hoher Chloridkonzentrationen. Die Systemkalibrierung umfasste neben Acetat (0,4-20 mg/L) und Chlorid (6-300 mg/L) auch Fluorid (0,02-1 mg/L), Nitrit und Bromid (0,04-2 mg/L) sowie Nitrat, Phosphat und Sulfat (0,2-10 mg/L).

Die Kationen wurden mit einer Metrosep C 6 - 150/4.0-Säule (Standardeluent, Flussrate: 1,3 mL/min, **Abbildung 2 B**) getrennt. Die Kationen-Kalibrierung wurde für Natrium (4-200 mg/L), Ammonium (0,02-1 mg/L) sowie Kalium, Calcium und Magnesium (0,2-10 mg/L) durchgeführt. Die spezielle Säulenchemie der Metrosep C 6 garantiert eine optimale Peakauflösung und ermöglicht die

Quantifizierung niedriger Konzentrationen an Analyten (z.B. Ammonium), die in der Nähe von höher konzentrierten Komponenten (z.B. Natrium) eluieren. Anionen und Kationen wurden in weniger als 25 Minuten gleichzeitig aus derselben Probe analysiert (**Abbildung 2**). Die Robustheit beider Trennsäulen ermöglicht hohe Durchflussraten, wodurch die Gesamtlaufzeit verkürzt wird.

ERGEBNISSE

Eine Zusammenfassung der Ergebnisse, einschließlich der berechneten Wiederfindungen im Vergleich zu den Herstellerwerten, ist in **Tabelle 2** dargestellt. Relative Standardabweichungen (RSDs) von weniger als 1 % für Anionen und Kationen bei wiederholten Probenmessungen zeigen eine angemessene Wiederholbarkeit der Methode. Die nach den Herstellerangaben berechneten Wiederfindungsraten lagen für alle Analyten zwischen 91-106 % (**Tabellen 1 und 2**). Die Hauptbestandteile der getesteten A-Konzentrate sind Natrium und Chlorid, entsprechend den Hauptfraktionen im Blutplasma, mit 136-145 mEq/L bzw. 98-106 mEq/L [2]. Dies zeigt jedoch auch,

dass es sich bei diesen Konzentraten um stark salzhaltige Lösungen handelt, die analytisch anspruchsvoll sind und häufig Schritte zur Matrixeliminierung für eine genaue Analytbestimmung erfordern. Bei hohen Konzentrationen können sowohl Natrium als auch Chlorid nahe gelegene Peaks (z. B. Acetat, Nitrit oder Ammonium) überlagern, wodurch ihre Quantifizierung unmöglich oder die Säule überlastet wird. Eine Säulenüberlastung ist erkennbar an einer Peakverbreiterung und erheblichen Retentionszeitverschiebungen.

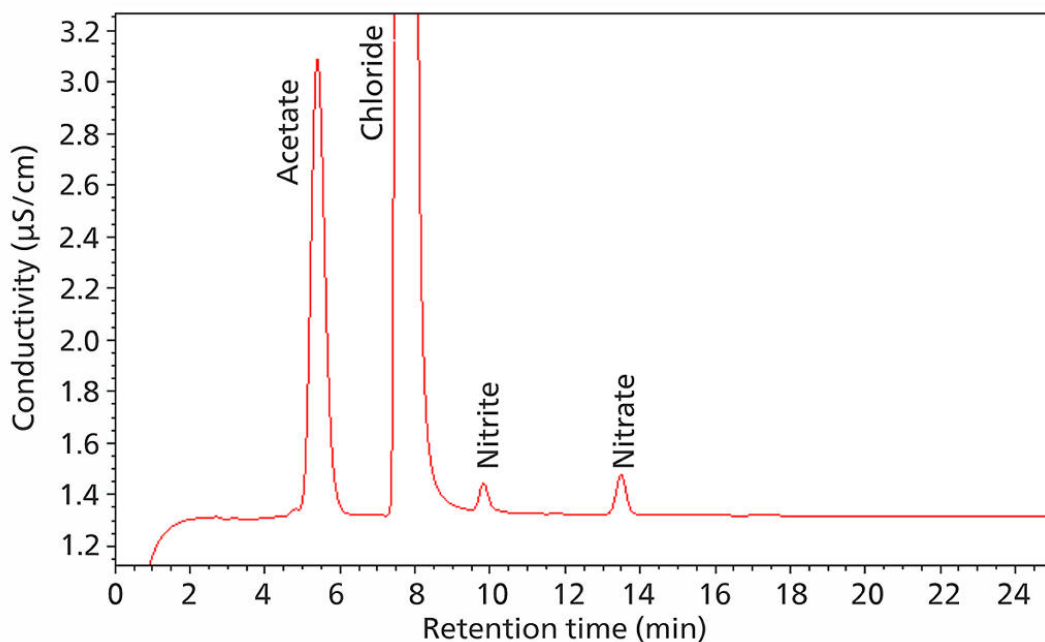


Abbildung 2 A.

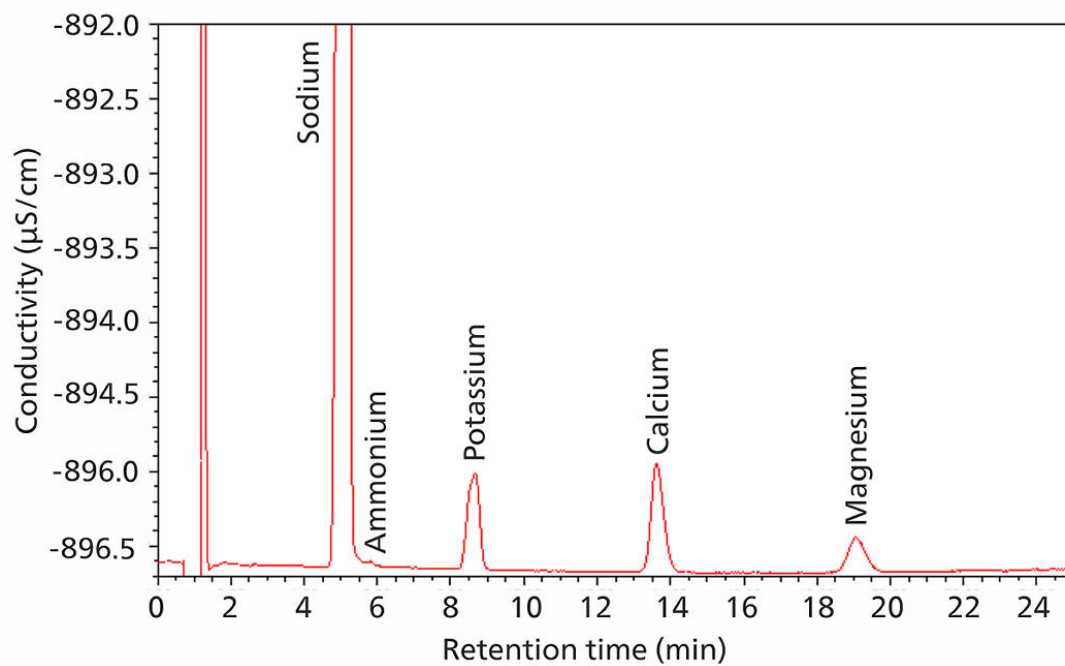


Abbildung 2 B.

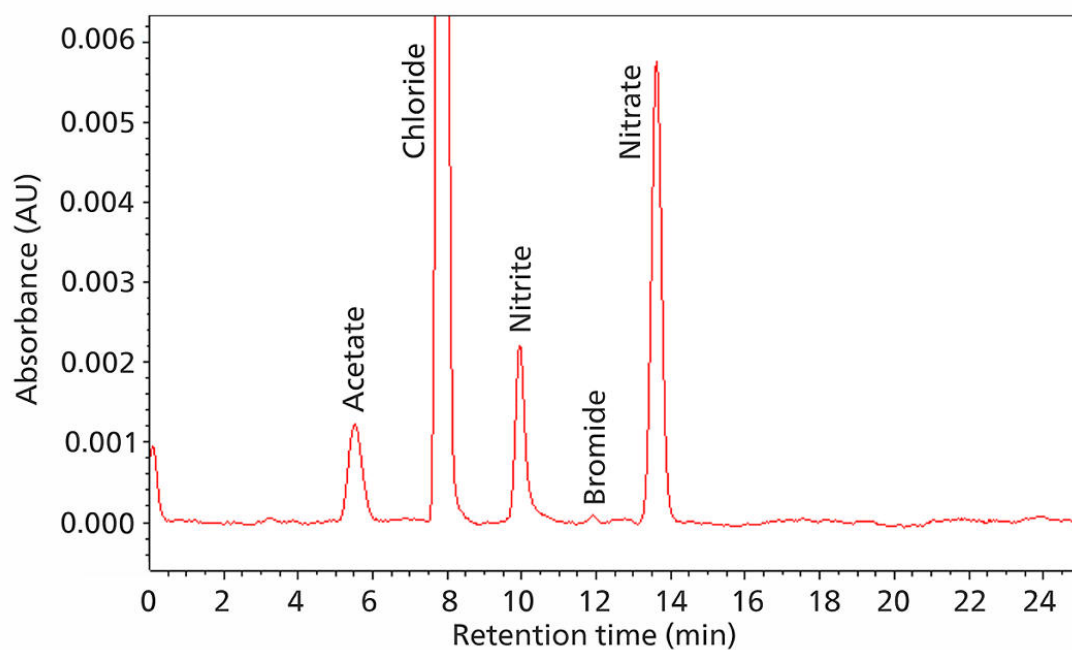


Abbildung 3 C. Chromatogramme mit Leitfähigkeits- (A, B) und UV-Signalen (C) für die IC-Analyse von Anionen (einschließlich Acetat) und Kationen in der Hämodialysekonzentratprobe #293. Alle Proben wurden mit einem Faktor von 750 mit Reinstwasser verdünnt. Das Injektionsvolumen betrug 20 μL .

Für die A-Konzentrate ist die exakte Bestimmung aller Komponenten (Acetat, Chlorid, Natrium, Kalium, Calcium und Magnesium, Tabelle 1) unabdingbar und erfordert eine geeignete Peaktrennung in Kombination mit scharfen und symmetrischen Peaks. Der Einsatz der Säulen Metrosep A Supp 19 und Metrosep C 6 vermeidet die genannten Probleme - die hohen Säulenkapazitäten verhindern eine Überlastung durch die Matrix und garantieren eine hervorragende Peaktrennung.

Tabelle 2. Daten für die Hauptkomponenten in den Hämodialyse-A-Konzentratproben Nr. 293 und Nr. 570 von MTN Neubrandenburg GmbH ein Nipro-Unternehmen. Die Daten zeigen Durchschnittswerte und RSDs für zwei getrennt aufbereitete und analysierte Proben (Verdünnung 1:500) sowie die Wiederfindungen basierend auf den Herstellerangaben.

	#293 Konz ₀ ±SD (RSD (%))	Erholung (%)	#570 Konz ₀ ±SD (RSD (%))	Wiederfindung (%)
Natrium (mol/L)	3,70±0,04 (1,0)	103	4,90±0,03 (0,6)	106
Kalium (mmol/L)	66,21±0,52 (0,8)	95	86,75±0,42 (0,5)	96
Magnesium (mmol/L)	15,95±0,11 (0,7)	91	21,47±0,08 (0,4)	96
Calcium (mmol/L)	50,36±0,56 (1,1)	96	55,18±0,19 (0,3)	98
Chlorid (mol/L)	3,84±0,01 (0,2)	103	4,97±0,01 (0,1)	104
Essigsäure (mol/L)	0,11±<0,01 (<0,1)	102	0,14±<0,01 (0,2)	102

Acetat (≈ 8 g/L) lässt sich neben hohen Chloridkonzentrationen (≈ 180 g/L) direkt auf der Metrosep A Supp 19 Säule bestimmen. Zusätzliche Schritte wie die Matrixeliminierung oder Anpassungen des Verdünnungsfaktors sind nicht notwendig. Kationen können parallel aus der gleichen Probe bestimmt werden (**Abbildung 1**,

Kationenkanal), da die Metrosep C 6-Säule auch für Proben mit hoher Matrix geeignet ist.

Für die Analyse der potenziellen Verunreinigungen Nitrit, Bromid und Nitrat kann mit einem UV/VIS-Detektor bei einer Wellenlänge von 205 nm eine höhere Empfindlichkeit erreicht werden.

FAZIT

Dialysekonzentrate, die für Hämodialysebehandlungen verwendet werden, sind Lösungen mit hohem Salzgehalt und benötigen daher eine Qualitätskontrollanalyse, die sowohl matrixtolerant als auch genau und empfindlich ist. Durch den Einsatz eines Zweikanal-IC-Systems können Anionen und Kationen genau und gleichzeitig aus derselben Probe bestimmt werden. In weniger als 25 Minuten können die wichtigsten Konzentratkomponenten Acetat, Chlorid, Natrium, Kalium, Kalzium und Magnesium sowie Verunreinigungen (z. B. Nitrit, Nitrat oder Ammonium) quantifiziert werden. Obwohl die Analyse von Matrices mit hohem Salzgehalt oft eine Herausforderung darstellt, verringern die hochkapazitiven Trennsäulen Metrosep A Supp 19 und Metrosep C 6 das übliche Risiko einer

Säulenüberladung und einer ungenauen Peakidentifizierung und -quantifizierung. Die gleichzeitige Analyse sowohl anionischer als auch kationischer Komponenten und Verunreinigungen ermöglicht eine umfassende Untersuchung aller Analyten aus einer einzigen Probe. Dies macht die IC zu einer genauen, empfindlichen, effizienten und leistungsfähigen Analysetechnik für die Qualitätskontrolle von pharmazeutischen Präparaten wie Hämodialysekonzentraten.

Die IC-Systeme von Metrohm können vollständig (einschließlich der intelligenten und automatisierten Funktionen) über verschiedene Software gesteuert werden: MagIC Net (Metrohm), Empower™ 3 (Waters), oder OpenLab CDS (Agilent). Diese Optionen bieten eine flexible Lösung für viele analytische Labore.

REFERENZEN

- [1] Hoenich, N.; Thijssen, S.; Kitzler, T.; Levin, R.; Ronco, C. Impact of Water Quality and Dialysis Fluid Composition on Dialysis Practice. *BPU* **2008**, 26 (1), 6–11. <https://doi.org/10.1159/000110556>.
- [2] Hoenich, N. A.; Ronco, C. Haemodialysis Fluid: Composition and Clinical Importance. *BPU* **2007**, 25 (1), 62–68. <https://doi.org/10.1159/000096400>.
- [3] Coulliette, A. D.; Arduino, M. J. Hemodialysis and

Water Quality. *Seminars in Dialysis* **2013**, 26 (4), 427–438. <https://doi.org/10.1111/sdi.12113>.

[4] Parker, J. N.; Parker, P. M. *Hemodialysis - A Medical Dictionary, Bibliography, and Annotated Research Guide to Internet References*; ICON Health Publications, USA, 2004.

[5] Catto, G. R. D. *Haemodialysis*; Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London, 1989.

Interne Referenz: AW IC CH-1455-042022

CONTACT

Metrohm Schweiz AG
Industriestrasse 13
4800 Zofingen

info@metrohm.ch

GERÄTEKONFIGURATION



Metrosep A Supp 19 - 150/4.0

Überragende Trenneigenschaften und hochkapazitiv – damit sticht die Metrosep A Supp 19 Produktfamilie deutlich aus dem Säulenportfolio hervor. Sie zeichnet sich durch beste Peaksymmetrien und Selektivitäten sowie einer hohen thermischen, mechanischen und chemischen Stabilität aus, was sie extrem robust und stabil gegenüber höheren Flussraten und Drücken macht.

Die 150-mm Variante gilt als die Standardsäule für die Anionenchromatographie, da sie den grössten Anteil an Applikationen sicher löst und sehr vielseitig einsetzbar ist. Aufgrund ihrer hohen Kapazität ist die Metrosep A Supp 19 - 150/4.0 Trennsäule selbst für komplexe Applikationen mit anspruchsvollen Matrices besonders gut geeignet. Das Einsatzgebiet der Metrosep A Supp 19 - 150/4.0 ist durch ihre hervorragenden Trenneigenschaften sehr vielfältig und umfasst z. B. die folgenden Applikationen:

- Bestimmung von Standardanionen (Fluorid, Chlorid, Nitrit, Bromid, Nitrat, Phosphat und Sulfat) in unterschiedlichsten Wasserproben;
- Bestimmung von Standardanionen und organische Säuren in komplexen Probenmatrices, wie z. B. Umwelt- oder Lebensmittelproben;
- Bestimmung von Standardanionen und organischen Säuren in Kesselspeisewasser, um den sicheren Betrieb von Kraftwerken zu gewährleisten;
- Bestimmung von Standardanionen in pharmazeutischen Proben.



Metrosep A Supp 19 Guard/4.0

Die Metrosep A Supp 19 Guard/4.0 schützt die Anionentrennsäulen der Metrosep A Supp 19 Produktfamilie zuverlässig vor Verunreinigungen aus Probe oder Eluent und verlängert damit ihre Lebensdauer massgeblich. Die Vorsäulen und Trennsäulen der Metrosep A Supp 19 Produktfamilie sind aus PEEK gefertigt und mit dem gleichen Material gefüllt. Das gewährleistet, dass die chromatographische Trennleistung in keiner Weise beeinträchtigt wird.

Das «On Column Guard System» ermöglicht das direkte und bequeme Aufschrauben der Vorsäule auf die Anionentrennsäule. Der günstige Preis und die einfache Handhabung machen die Metrosep A Supp 19 Guard/4.0 zum idealen Schutz der Trennsäule.



Metrosep C 6 - 150/4.0

Le matériau haute capacité de la C 6 fait de la colonne de séparation Metrosep C 6 - 150/4,0 la solution optimale pour la séparation des cations standard à des concentrations très différentes avec des temps de rétention raisonnables. Les eaux potables présentant de faibles teneurs en ammonium peuvent être déterminées à l'aide de cette colonne.



Metrosep C 6 Guard/4.0

Die Metrosep C 6 Guard/4.0 enthält das C-6-Säulenmaterial und dient dem Schutz vor Partikel und Verunreinigungen. Damit wird die Lebensdauer der analytischen Trennsäule deutlich verlängert. Die Metrosep C 6 Guard/4.0 funktioniert nach dem «On Column Guard System» und wird nahezu ohne Totvolumen direkt auf die jeweilige Trennsäule montiert.



940 Professional IC Vario TWO/SeS/PP

Der 940 Professional IC Vario TWO/SeS/PP ist das intelligente **Zwei-Kanal-IC-Gerät** mit **sequenzieller Suppression** (ein Kanal) und einer **Peristaltikpumpe** zur Suppressorregeneration. Das Gerät kann mit beliebigen Trenn- und Detektionsmethoden eingesetzt werden.

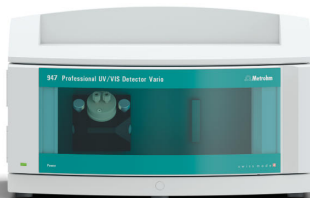
Typische Anwendungsgebiete:

- Standardgerät für parallele Anionen- und Kationenbestimmungen
- Spurenanalytik für Anionen und Kationen
- Online-Monitoring für Anionen und Kationen



889 IC Sample Center – cool

Das 889 IC Sample Center – cool ist die geeignete Automationslösung, wenn Sie nur über sehr wenig Probe verfügen. Er verfügt gegenüber dem 889 IC Sample Center zusätzlich über eine Kühlfunktion und ist damit der ideale Probenwechsler für biochemisch relevante oder thermisch instabile Proben.



947 Professional UV/VIS Detector Vario MW

Der intelligente Multi-Wellenlängen-Detektor, 947 Professional UV/VIS Detector Vario MW, ermöglicht die sichere und zuverlässige Quantifizierung von Substanzen, die im ultravioletten oder sichtbaren Bereich aktiv sind. Es können bis zu acht Wellenlängen frei gewählt werden. Die Detektion erfolgt über einen Dioden-Array.