

使用 Agilent 8697 顶空进样器和 8850 GC-FID 系统进行制药行业的残留溶剂分析

作者

Jie Zhang

安捷伦科技（上海）有限公司

摘要

活性药物成分 (API) 的生产过程可能导致成品中存在残留溶剂。根据法规要求，生产商需要监测并控制溶剂残留的含量。在本研究中，按照 USP 方法 <467>，结合使用 Agilent 8850 气相色谱 (GC) 系统与 Agilent 8697 顶空进样器进行溶剂残留分析。使用氦气和氢气载气对系统的检测能力、分离度、定性准确度和定量分析精度进行了验证。

前言

在制药行业中，残留溶剂是合成原料药和药物赋形剂过程中使用的挥发性有机物质。生产溶剂没有治疗作用，仅用于提高产量或决定晶型、纯度和溶解度等特性。应尽可能完全去除溶剂，确保产品符合成分/产品质量标准、质量要求和药品生产质量管理规范中的监管要求。制药行业中使用的溶剂可分为三类。对于每个类别中的特定溶剂，ICH Q3C 规定了其在药品和膳食补充剂产品中的一般可接受含量^[1]。USP 方法 <467> 描述了分析残留溶剂的程序^[2]。所有第 1 类溶剂和大部分第 2 类溶剂均可鉴定和确认，浓度限值检测可在两根采用互补固定相的气相色谱柱上进行。

作为一项成熟的分析技术，气相色谱被广泛用于离线或在线工艺控制环境，以监测中间产物、APIs 或赋形剂中的残留溶剂。为了监测生产工艺，通常会指定一台气相色谱装置进行特定分析。使用该专用气相色谱系统分析的样品来自成熟的生产线，且特性已知。与需要一台气相色谱仪分析来自不同工艺的各种样品的情况相比，采用这种专用气相色谱仪的策略可大幅降低气相色谱仪损坏的可能性。因此，这种“一台气相色谱仪对应一种方法/一种产品”的方法可确保生产线的运营更加顺畅。提高产品产量和建立新的生产线至关重要，但狭小的实验室空间内能容纳的专用气相色谱仪数量有限。8850 气相色谱系统体积小巧，有助于缓解这一问题。这款创新型气相色谱系统由 Agilent 6850 气相色谱系统的经典设计演变而来，并融合 Agilent 8890 平台先进的架构设计。8850 气相色谱系统以其小巧体积（单通道配置，可容纳一个进样口、一台检测器和一根色谱柱）、加热和冷却迅速、具有智能诊断和维护功能、性能与 8890 气相色谱系统相当而脱颖而出。这些特征使 8850 气相色谱系统成为制药过程控制的理想选择，该过程需

要可靠、稳定的仪器来提供及时的反馈。在下面的研究中，根据 USP 方法 <467>，将 8850 气相色谱仪与 8697 顶空进样器联用进行残留溶剂分析，以实现过程控制目的。对 USP <467> 中的分析程序 A 和程序 B 使用了氢气和氦气两种载气进行研究。安捷伦方法转换软件大大简化了氦气和氢气之间方法转换的程序，本文展示了这一应用。

实验部分

仪器和软件

8850 气相色谱仪配备分流/不分流进样口 (S/SL) 和火焰离子化检测器 (FID)，并采用 8697 顶空进样器进样。数据由 Agilent OpenLab CDS 2.8 版采集。使用六西格玛噪音计算 1 类溶剂的信噪比 (S/N)。

化学品

顶空级二甲基亚砜 (DMSO) (99.9%) 购自 Sigma-Aldrich。超纯水取自 Milli-Q EQ 7000 超纯水纯化系统。1 类 (部件号 5190-0490)、2A 类 (部件号 5190-0492) 和 2B 类 (部件号 5190-0513) 溶剂的残留溶剂标准品来自安捷伦。四种溶剂单标、甲基异丁基酮 (MIBK)、环戊基甲醚 (CPME)、叔丁醇 (TBA) 和异丙苯购自 Alta Scientific Co. Ltd。

样品前处理

根据 USP <467> 方案对残留溶剂样品进行样品前处理 (图 1)。将三种溶剂混标稀释，制得各溶剂浓度限下的标准溶液。初始 1 类和 2 类混标中不含 MIBK、TBA、CPME 和异丙苯。它们用 DMSO 配制成一定浓度，并加标至稀释的 2A 类溶液中，以达到浓度限值。

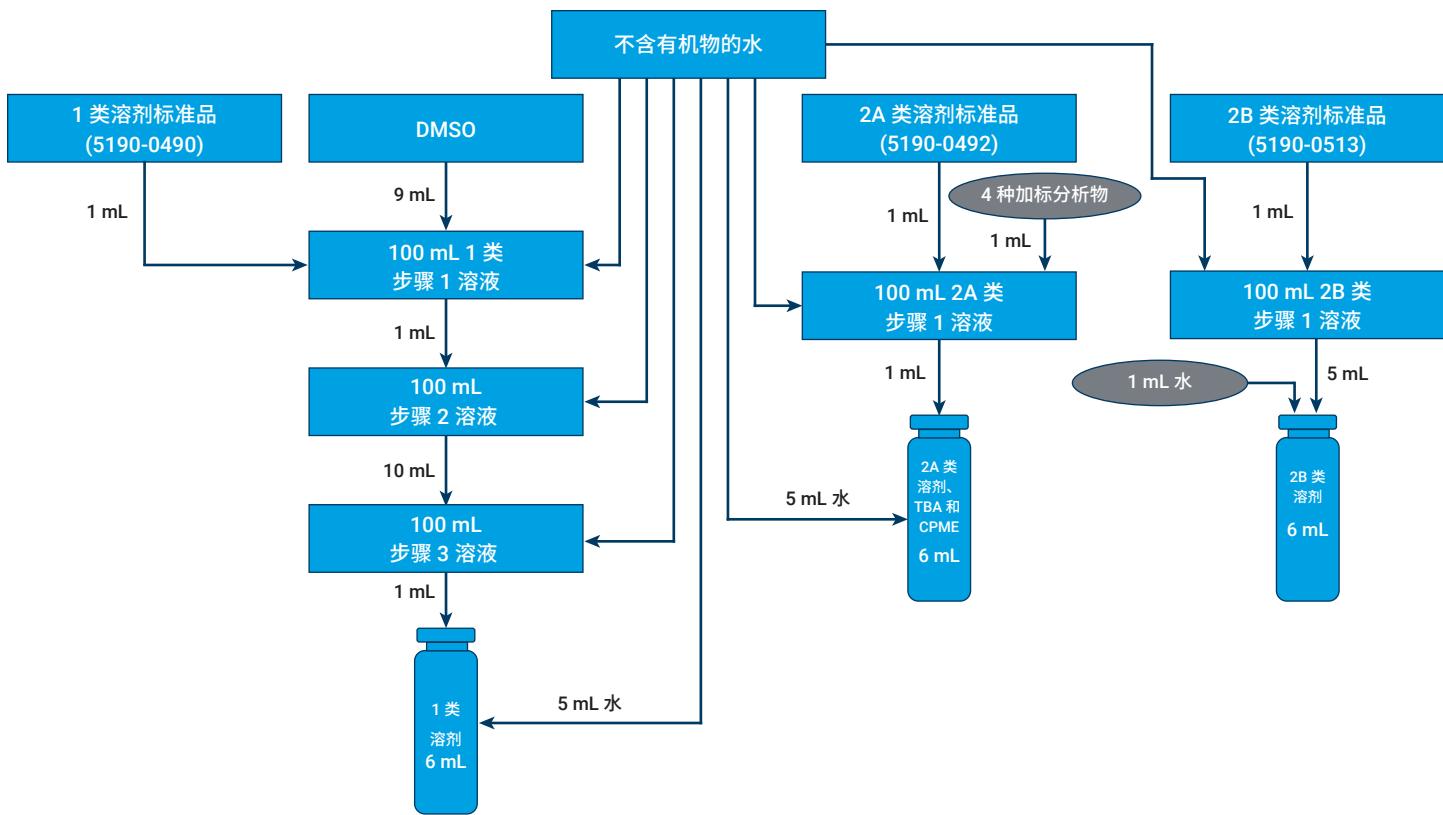


图 1. 根据 USP 方法 <467> 制备的 1 类和 2 类溶剂测试标准品

仪器条件和消耗品

表 1. Agilent 8850 气相色谱系统和 Agilent 8697 顶空进样器的分析参数

参数	值
Agilent 8850 GC	
进样口	140 °C, 分流模式
进样口衬管	2 mm 不分流, 直型, 去活 (部件号 5181-8818)
分流比	10:1
载气	He 和 H ₂
色谱柱流速	恒流模式 He: 2 mL/min; H ₂ : 2.5 mL/min
用于程序 A 的色谱柱 1	满足 467 要求的 Agilent J&W DB-Select 624 UI, 30 m × 0.32 mm, 1.8 μm (部件号 100-2000, 定制 5 英寸色谱柱)
用于程序 B 的色谱柱 2	Agilent J&W DB-WAX UI, 30 m × 0.32 mm, 0.25 μm (部件号 123-7032UIE)
柱温箱升温程序	He: 40 °C (保持 5 min), 以 18 °C/min 升至 180 °C (保持 5 min) H ₂ : 40 °C (保持 3.6 min), 以 25 °C/min 升至 180 °C (保持 3.6 min)
FID 温度	250 °C
空气	400 mL/min
H ₂	30 mL/min
尾吹气流速 (N ₂)	25 mL/min
数据采集速率	10 Hz

参数	值
Agilent 8697 顶空进样器	
样品定量环	1 mL
顶空柱温箱温度	85 °C
定量环温度	85 °C
传输线温度	100 °C
样品瓶平衡时间	40 min
样品瓶规格	20 mL
样品瓶振荡	振幅 2 级 (25 次振荡/分钟)
样品瓶填充模式	默认
样品瓶填充压力	15 psi
加压气体	氮气
压力平衡时间	0.1 min
定量环升压速率	20 psi/min
定量环最终压力	4 psi
定量环平衡时间	0.05 min

结果与讨论

根据 USP <467> 标准中描述的鉴定程序和要求，对 8697 顶空进样器/8850 气相色谱系统的残留溶剂分析性能进行了验证。程序 A 在 G43 型固定相上进行。本研究使用 5 英寸 Agilent J&W DB-Select 624 UI 色谱柱进行程序 A 分析。在各溶剂的浓度限下共分析了 32 种溶剂。其中的两种溶剂 (CPME 和 TBA) 已根据 ICH Q3C(R8) 列入 2 类溶剂列表中，但尚未正式列入 USP <467>。USP <467> 要求，在程序 A 中，如果测试样品溶液中任何峰的峰响应值大于或等于 1 类或 2 类标准品溶液中相应峰的峰响应值，则应执行程序 B 确认峰归属。出于补充鉴定目的，程序 B 中使用的色谱柱固定相不同于程序 A 中使用的色谱柱固定相。程序 B 使用 5 英寸 Agilent J&W DB-WAX UI 色谱柱，其固定相类似于 USP <467> 推荐的 G16。程序 A 和 B 的分析要求如下：

程序 A 系统适用性测试：

- 在 1 类标准品溶液中，1,1,1-三氯乙烷的信噪比不低于 5
- 在 1 类系统适用性测定溶液中，各峰的信噪比不低于 3
- 在 2 类混标溶液 A 中，乙腈和二氯甲烷之间的分离度不低于 1.0

程序 B 系统适用性测试：

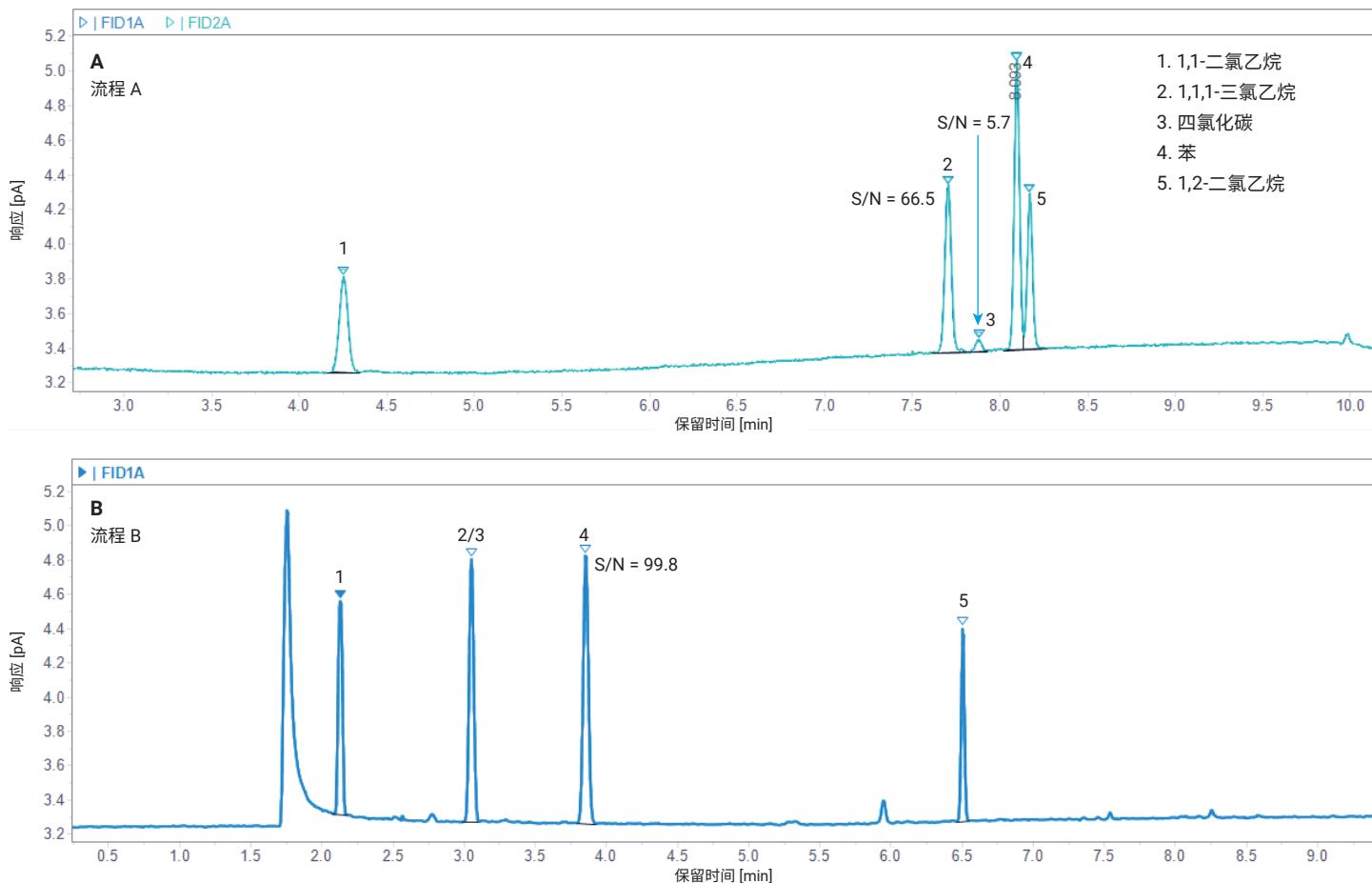
- 在 1 类标准品溶液中，苯的信噪比不低于 5
- 在 1 类系统适用性测定溶液中，各峰的信噪比不低于 3
- 在 2 类混标溶液 A 中，MIBK 和顺式-1,2-二氯乙烯之间的分离度不低于 1.0

使用氦气载气分析 1 类和 2 类残留溶剂

1 类溶剂具有不可接受的毒性或有害环境影响，与 2A 和 2B 类溶剂相比，可接受限值最低。图 2 显示了程序 A 和程序 B 中 1 类溶剂的色谱图。色谱图中列出了 1,1,1-三氯乙烷、苯和四氯化碳 (1 类溶剂中的最低响应化合物) 的相应信噪比。

在 2 类溶剂的分析中，乙腈和二氯甲烷的分离度为 3.3，高于溶剂筛选分离度阈值 1.0。程序 A 中共洗脱的 MIBK/CPME 和间二甲苯/对二甲苯这两个化合物对在程序 B 中均得到良好分离 (图 3)。程序 B 中 MIBK 和顺式-1,2-二氯乙烯的分离度大于 4.0。在程序 B 中，乙腈在 MIBK 和顺式-1,2-二氯乙烯之间洗脱，乙腈峰在 MIBK 峰之前流出。USP <467> 还要求在目标溶剂分析中，每对溶剂之间的分离度不应低于 1.0；乙腈和 MIBK 的分离度达到 1.9，轻松满足这一要求。

在测试的限值浓度下，色谱图中溶剂的响应各不相同。这种响应差异由水和空气之间的化合物分配系数常数、每种溶剂的特定响应因子以及各浓度限的差异导致。在测试溶剂中，甲醇和乙腈的分配系数常数 (K) 较大，蒸发到顶空气相中用于 FID 检测的量较少。因此，它们的峰非常小。硝基甲烷的响应因子较低，因此其峰面积也非常小。在浓度限下响应较低的溶剂与响应较高的溶剂相比，前者的峰面积 %RSD 往往较大，如方法精度结果所示。



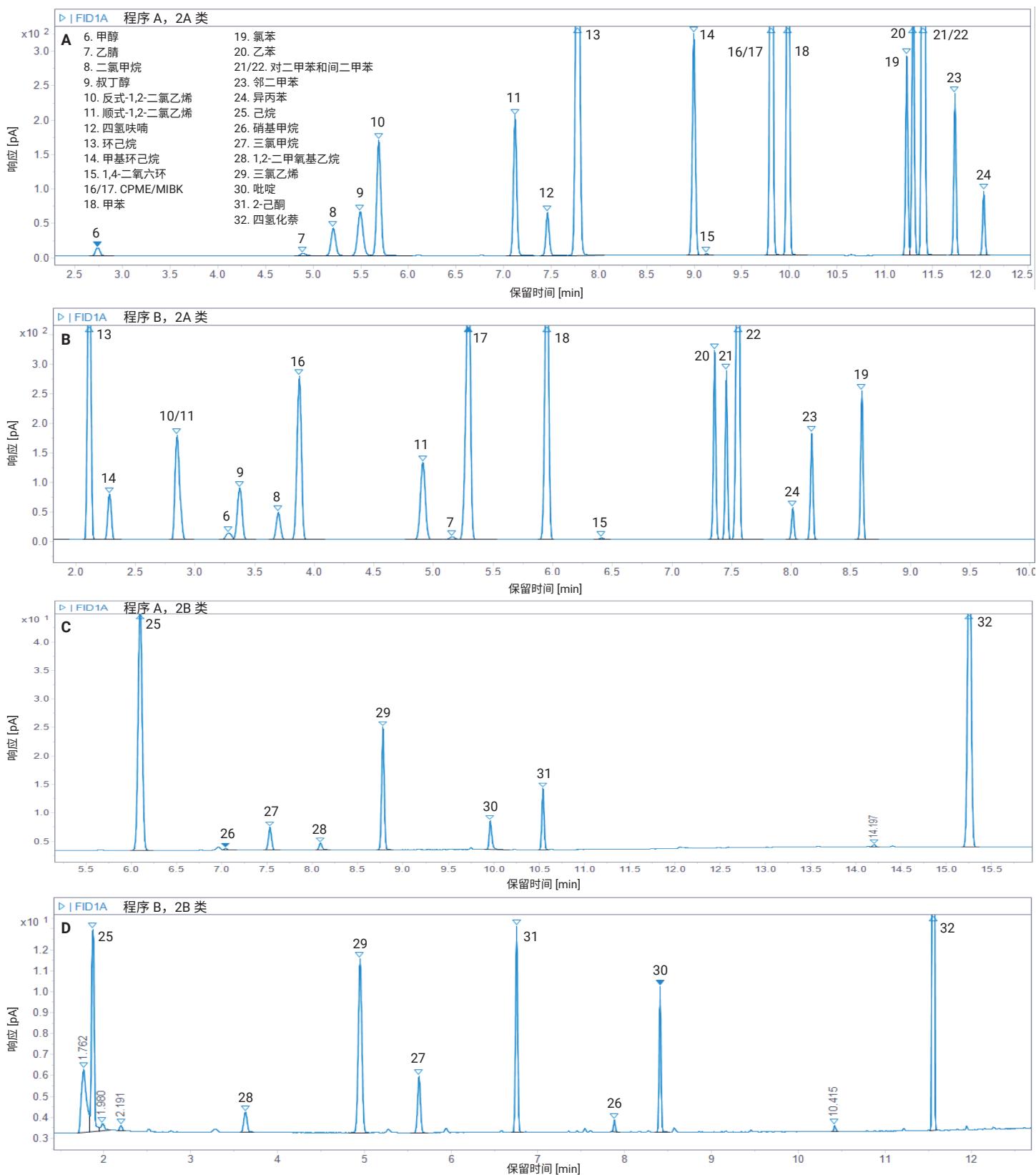


图3. 使用氦气载气时在程序 A (Agilent DB-624 select UI 467 色谱柱) 和程序 B (Agilent DB-WAX UI 色谱柱) 中鉴定的 2A 类和 2B 类溶剂

在程序 A 和 B 中, 连续 6 次进样浓度限下的 1 类和 2 类标准品, 以评估氦气方法的精度。在程序 A 中, 峰面积 %RSD 范围为 0.65%–3.46%, 平均值为 1.78%; 在程序 B 中, 峰面积 %RSD 范围为 0.60%–3.30%, 平均值为 1.85% (图 4)。有四种化合物的峰面积 %RSD 大于 3.0%, 包括程序 A 中的四氯化碳 (3.46%), 以及程序 B 中的乙腈 (3.18%)、硝基甲烷 (3.11%) 和吡啶 (3.30%)。四氯化碳、乙腈和硝基甲烷的绝对响应值较

低, 这使得它们的响应 %RSD 大于其他成分。程序 A 的保留时间 (RT) 精度范围为 0.003%–0.033%, 平均值为 0.007%, 程序 B 中的保留时间精度范围为 0.006%–0.036%, 平均值为 0.017% (详见附录表 3)。出色的 RT 精度有助于确保在所有使用情况下可靠地鉴定 (程序 A) 和确认 (程序 B) 检测到的化合物, 如生产过程中执行的筛选测试和限值测试 (使用程序 A 或程序 B)。

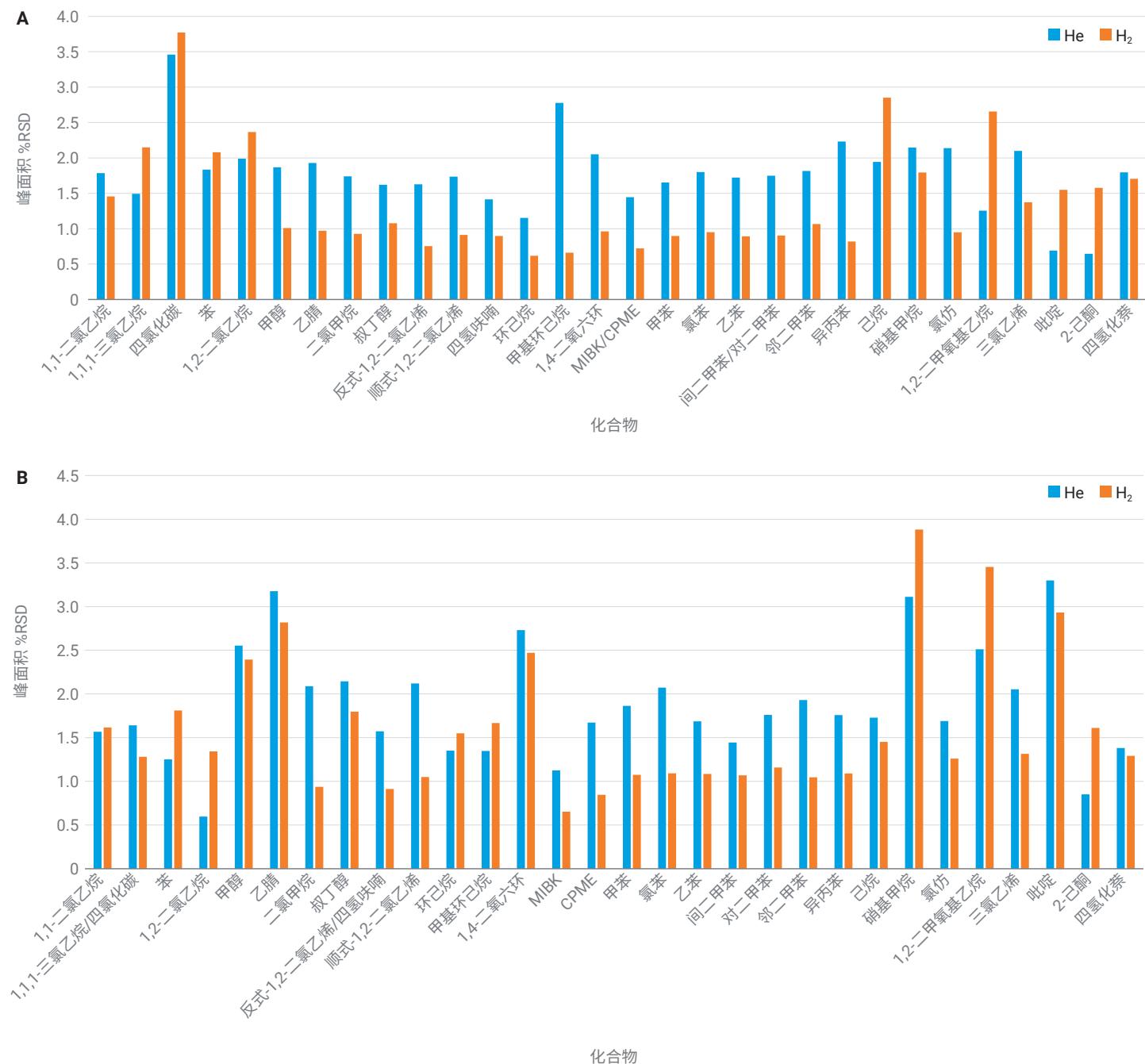


图 4. 使用不同载气时在程序 A 和 B 中获得的 1 类和 2 类溶剂的峰面积精度

使用 H₂ 载气分析 1 类和 2 类残留溶剂

USP <467> 建议在气相色谱分离中使用三种类型的载气：氦气、氮气和氢气。氦气因其惰性、纯度和出色色谱性能而成为最常用的载气；然而，氦气的需求量不断增加，但其供应却不可靠。越来越多的气相色谱用户正在寻求替代载气。基于氮气和氢气的方法在不同行业中得到发展。与氮气相比，氢气可在不影响分析速度的情况下提供良好的分离效果。之前的应用简报研究了使用氮气载气进行 USP <467> 残留溶剂

分析的情况^[3]。本研究开发了一种基于氢气载气方法的残留溶剂分析。使用方法转换工具将 He 方法转换为 H₂ 方法。如图 5 所示，通过选择转换选项，将 He 方法中的分析参数转换为 H₂ 方法中使用的条件，并预测了分析速度增益。转换后的方法可以直接使用，也可以作为新方法的起点，通过进一步完善来满足特定的分析要求。这篇工作中，转换至 H₂ 载气后，转换后的方法可直接用于残留溶剂分析。

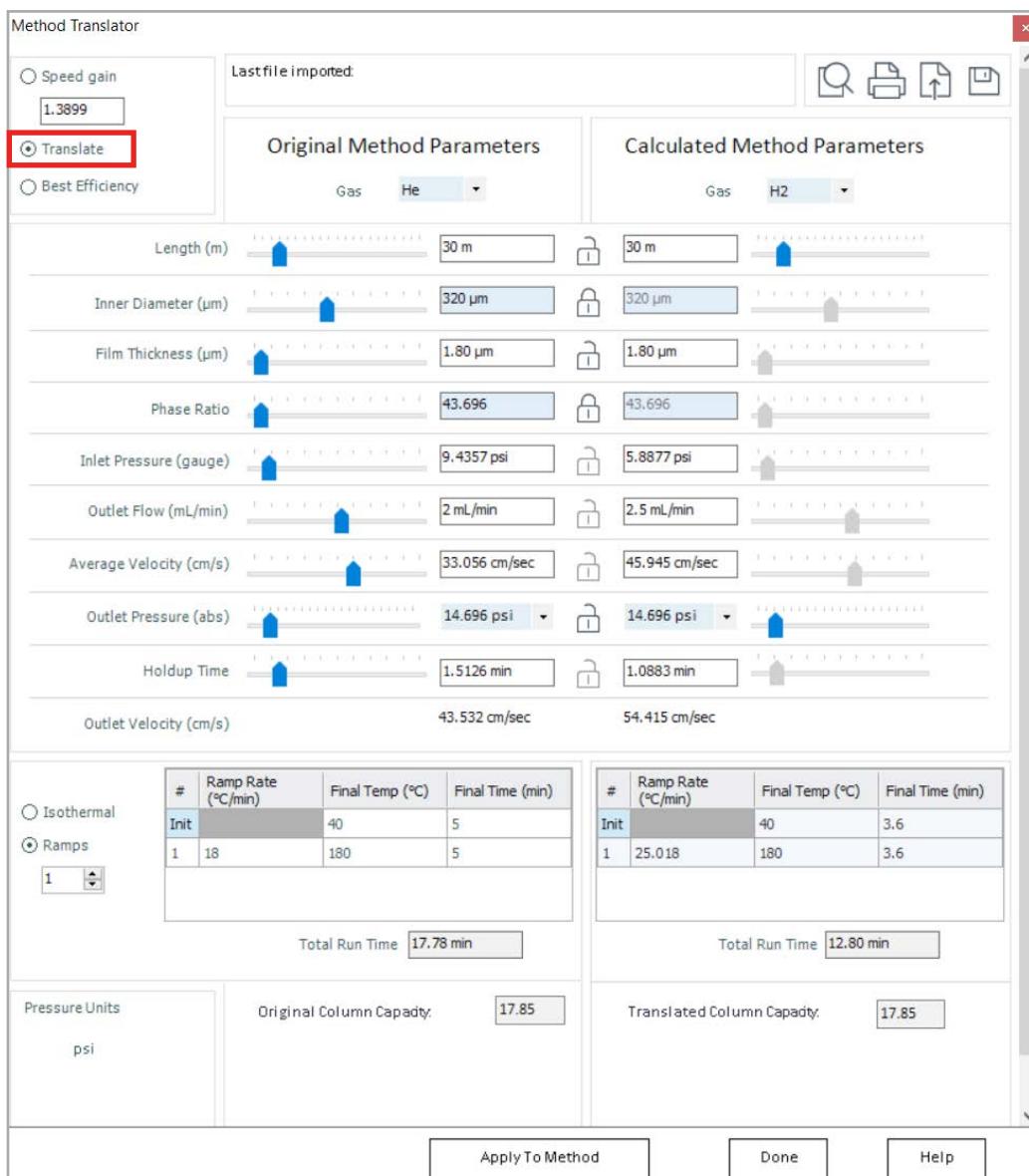


图 5. 方法转换软件：将 He 方法转换为 H₂ 方法

转换为 H₂ 载气所得的色谱图如图 6 和图 7 所示。在程序 A 和 B 中, He 和 H₂ 方法之间各溶剂的保留时间比值为 71%–74% (表 2), 这与方法转换软件预测的速度增益 1.39 一致。

表 2. 使用 He 和 H₂ 方法时各溶剂的保留时间比值

化合物名称	He	H ₂	DB-624 上的 RT 比值 (%)	He	H ₂	DB-WAX 上的 RT 比值 (%)
	DB-624 上的 RT (min)	DB-624 上的 RT (min)		DB-WAX 上的 RT (min)	DB-WAX 上的 RT (min)	
1,1-二氯乙烷	4.25	3.114	73.3	2.125	1.566	73.7
1,1,1-三氯乙烷	7.702	5.535	71.9	3.047	2.231	73.2
四氯化碳	7.876	5.658	71.8	3.047	2.231	73.2
苯	8.094	5.812	71.8	3.85	2.81	73.0
1,2-二氯乙烷	8.168	5.864	71.8	6.501	4.703	72.3
甲醇	2.733	2.033	74.4	3.281	2.402	73.2
乙腈	4.886	3.572	73.1	5.155	3.749	72.7
二氯甲烷	5.205	3.792	72.9	3.696	2.702	73.1
叔丁醇	5.489	3.982	72.5	3.372	2.467	73.2
反式-1,2-二氯乙烯	5.683	4.123	72.5	2.847	2.09	73.4
顺式-1,2-二氯乙烯	7.114	5.124	72.0	4.908	3.573	72.8
四氢呋喃	7.454	5.362	71.9	2.847	2.09	73.4
环己烷	7.771	5.586	71.9	2.111	1.556	73.7
甲基环己烷	8.991	6.445	71.7	2.281	1.679	73.6
1,4-二氧六环	9.126	6.541	71.7	6.407	4.632	72.3
MIBK	9.806	7.021	71.6	5.291	3.836	72.5
CPME	9.806	7.021	71.6	3.872	2.825	73.0
甲苯	9.98	7.144	71.6	5.948	4.304	72.4
氯苯	11.228	8.029	71.5	8.586	6.18	72.0
乙苯	11.295	8.076	71.5	7.354	5.309	72.2
间二甲苯	11.399	8.15	71.5	8.006	5.77	72.1
对二甲苯	11.399	8.15	71.5	7.452	5.378	72.2
邻二甲苯	11.735	8.388	71.5	8.166	5.882	72.0
异丙苯	12.037	8.602	71.5	7.55	5.446	72.1
己烷	6.1	4.409	72.3	1.87	1.383	74.0
硝基甲烷	7.035	5.067	72.0	7.878	5.685	72.2
氯仿	7.527	5.413	71.9	5.626	4.079	72.5
1,2-二甲氧基乙烷	8.08	5.801	71.8	3.626	2.65	73.1
三氯乙烯	8.773	6.29	71.7	4.948	3.601	72.8
吡啶	9.948	7.12	71.6	8.404	6.054	72.0
2-己酮	10.539	7.54	71.5	6.751	4.879	72.3
四氢化萘	15.252	10.85	71.1	11.552	8.276	71.6

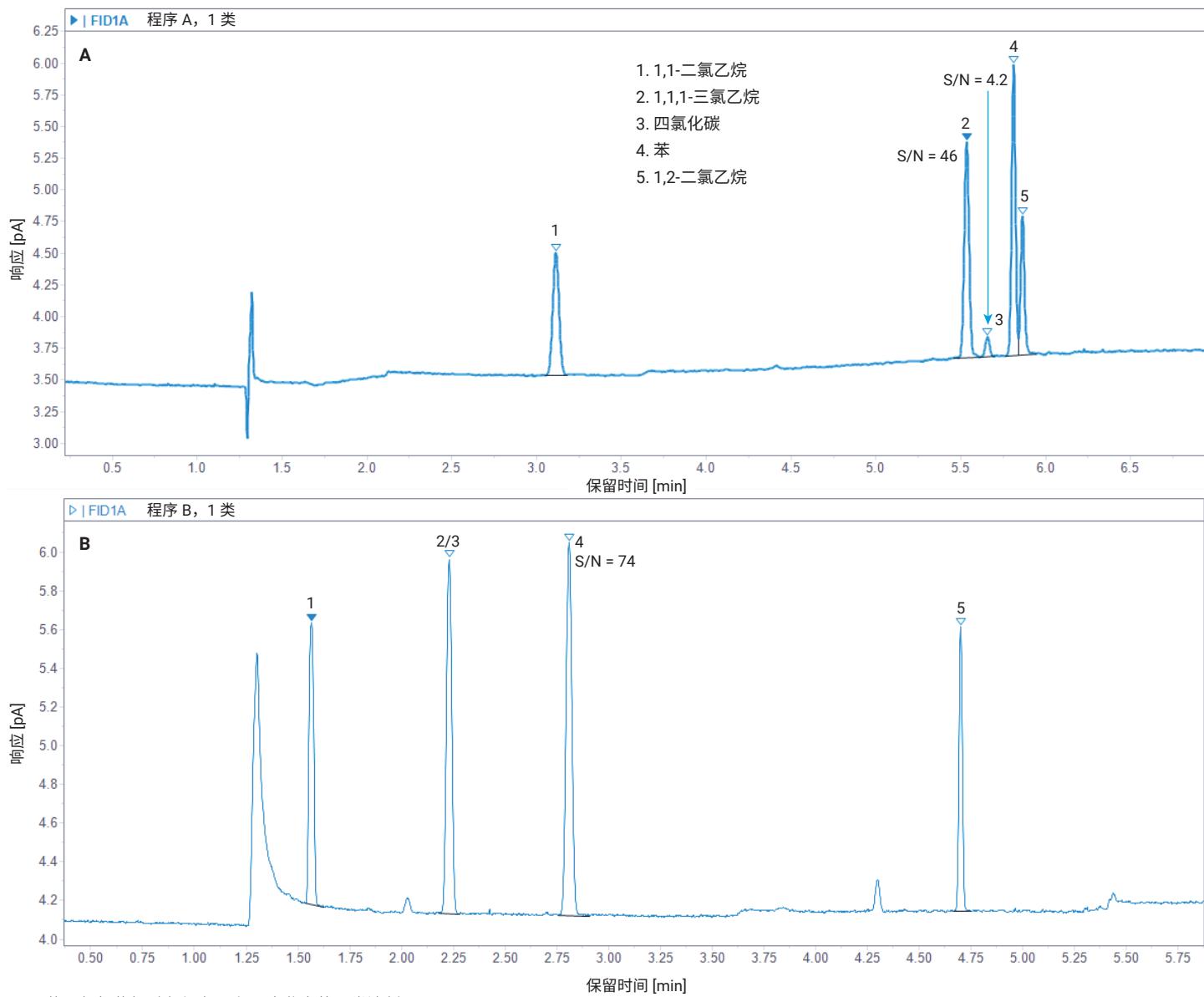


图 6. 使用氢气载气时在程序 A 和 B 中鉴定的 1 类溶剂

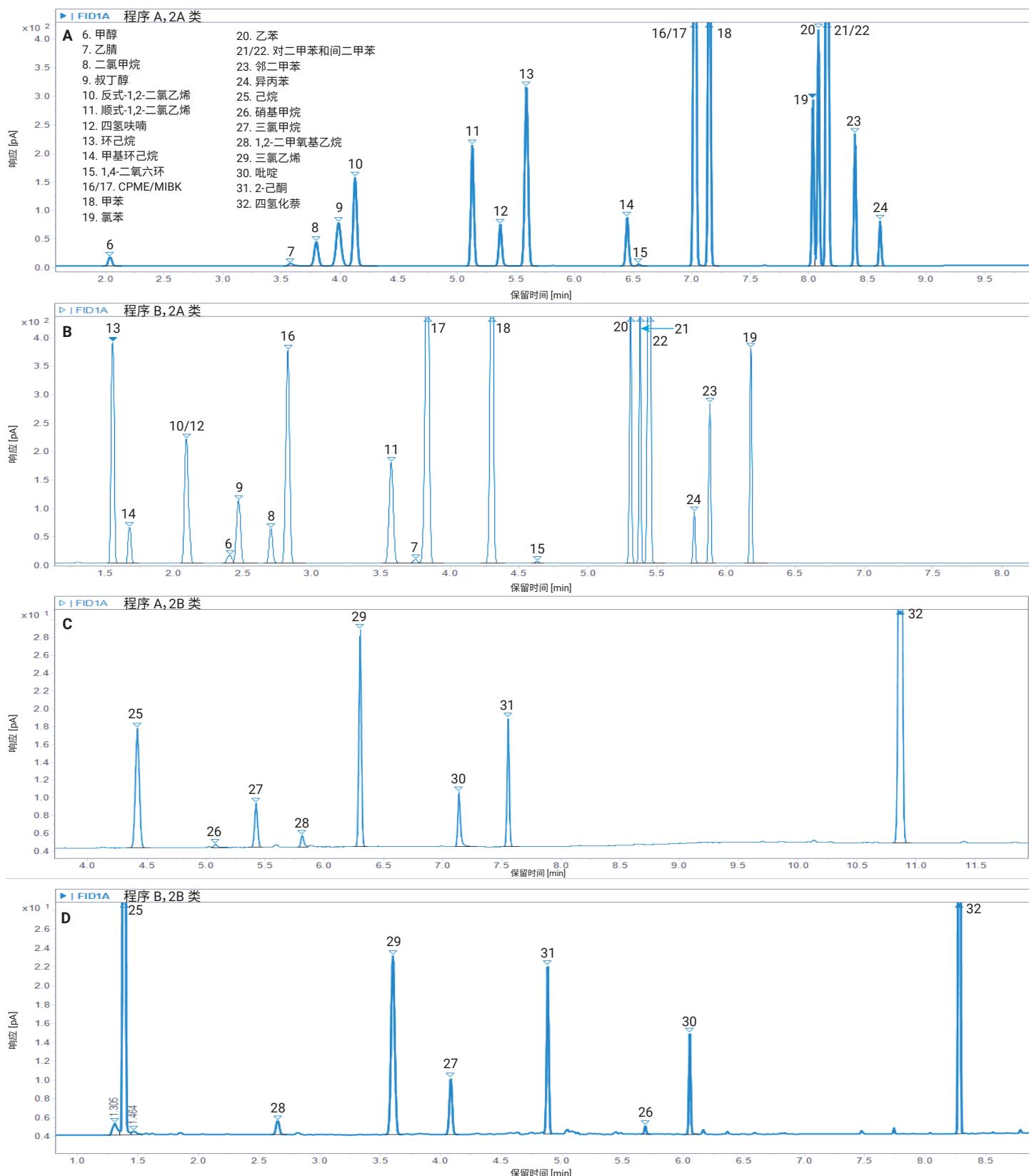


图 7. 使用氢气载气时在程序 A (Agilent DB-624 select UI 467 色谱柱) 和程序 B (Agilent DB-WAX UI 色谱柱) 中鉴定的 2A 类和 2B 类溶剂

使用 H_2 载气时，就 1 类溶剂的信噪比和 2 类主要溶剂之间的分离度而言，程序 A 和 B 的检测能力和分离能力均符合系统适用性要求。1,1,1-三氯乙烷、苯和四氯化碳的信噪比（列于色谱图中）与使用 He 方法获得的信噪比相当。使用氢气（程序 B）时，DB-WAX 色谱柱上乙腈和 MIBK 的分离度 (RS) 为 1.6，也与 He 法中的 RS (1.9) 相当（图 8）。采用与 He 方法相同的评估方法，在浓度限下对 1 类和 2 类溶剂连续进行六次分析，以评估方法的精度。对于甲醇、乙腈和叔丁醇等早流出化合物，程序 A 中 H_2 方法的 RT 精度略逊于 He 方法。考虑到这三种成分的保留时间非常短（在氢气方法中它们的保留时间小于 4.0 分钟），尽管它们的 RT %RSD 介于 0.03%–0.07% 之间，比其他溶剂略高，但结果仍足以实现准确定性。氢气方法的峰面积精度与氦气方法相当，大多数溶剂的峰面积 %RSD 低于 3.5%，确保了溶剂限值检测的准确度和高可信度。详细的 H_2 方法精度结果见附录表 3。

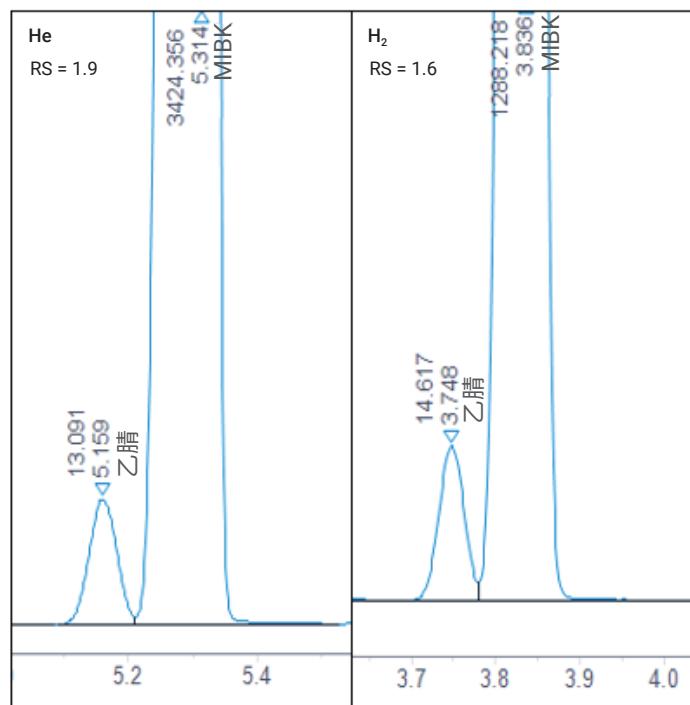


图 8. 使用氦气和氢气载气时在 Agilent DB-WAX UI 色谱柱上乙腈和 MIBK 之间的 USP 分离度

DB-624 和 DB-WAX 色谱柱上 1 类和 2 类溶剂的二维 RT 分布

为了更清晰地展示 32 种目标溶剂在 DB-624 选择柱和 DB-WAX 色谱柱上的完全分离，以 DB-624 色谱柱上的 RT 为水平轴，DB-WAX 色谱柱上的 RT 为垂直轴，绘制了二维 (2D) RT 图。该二维 (2D) RT 图针对 He 和 H₂ 方法绘制 (图 9A 和图 9B)。

每个点代表一种溶剂。点之间无重叠表示溶剂在程序 A 和程序 B 中通过互补鉴定实现良好分离。两幅图之间的分布模式相同意味着当使用 H₂ 载气时 (相比于氦气载气)，选择性没有变化，且系统分离度保持在最高水平。

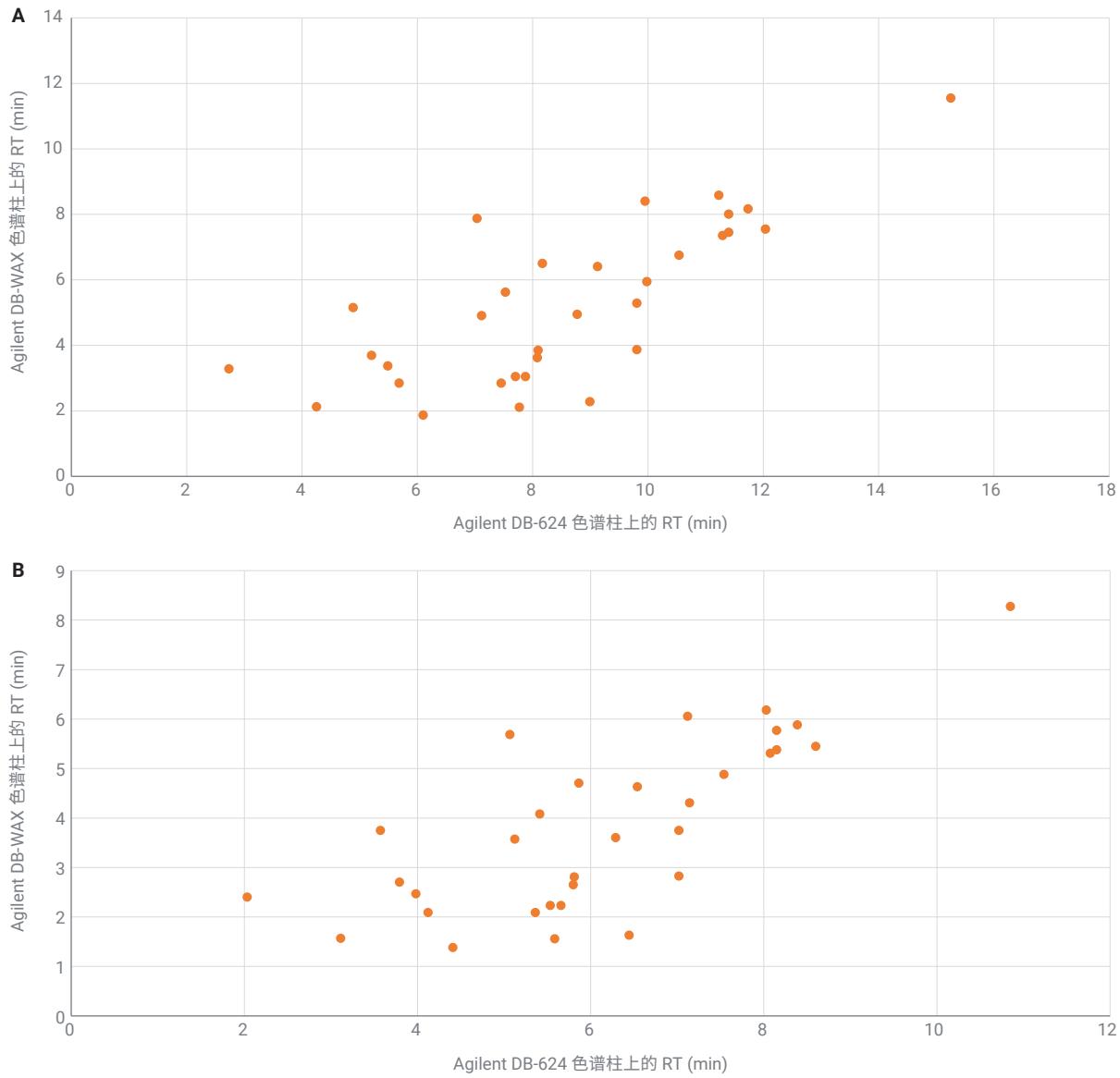


图 9. 根据使用 He (A) 和 H₂ (B) 方法获得的程序 A 和程序 B 分离结果绘制的 32 种溶剂的二维 RT 图

结论

在本应用简报中，按照 USP 方法 <467>，联用 Agilent 8850 气相色谱系统与 Agilent 8697 顶空进样器进行残留溶剂分析。通过在该系统上连接适当类型的色谱柱，可进行程序 A 或程序 B 分析。使用两种载气（氦气和氢气）进行系统性能评估。H₂ 方法通过使用安捷伦方法转换软件转换 He 方法而获得。系统性能（包括 1 类溶剂的信噪比和 2 类溶剂中关键探针化合物的分离度）均满足并超过 USP <467> 中的系统适用性测试要求。两种方法所得的保留时间和峰面积精度都非常出色且相互一致，表明 8697 HS-8850 气相色谱联用系统可以为溶剂筛选测试和工艺监控过程中分析的目标溶剂的准确限值测试提供可靠的鉴定/确认。

参考文献

1. U.S. FDA. Impurities: Guidance for Residual Solvents Q3C (R8). Q3C(R8) Impurities: Guidance for Residual Solvents Guidance for Industry (**2021**)
2. USP Residual Solvents. 467 Residual Solvents (uspnf.com)
3. Zhang, Y., 使用 Agilent 8697 顶空进样器-XL Tray 以及 Agilent 8890 气相色谱系统分析 USP 残留溶剂，安捷伦科技公司应用简报，出版号 5994-6020ZHCN，**2023**

附录

表 3. 使用氦气和氢气载气时的方法精度

化合物	氦气方法				氢气方法			
	Agilent DB-624 Select UI		Agilent DB-WAX UI		Agilent DB-624 Select UI		Agilent DB-WAX UI	
	RT %RSD	峰面积 %RSD	RT %RSD	峰面积 %RSD	RT %RSD	峰面积 %RSD	RT %RSD	峰面积 %RSD
1,1-二氯乙烷	0.014	1.786	0.017	1.568	0.024	1.456	0.012	1.617
1,1,1-三氯乙烷	0.008	1.494	0.016	1.641	0.008	2.149	0.01	1.281
四氯化碳	0.033	3.46	与 1,1,1-三氯乙烷共流出		0.011	3.771	与 1,1,1-三氯乙烷共流出	
苯	0.006	1.836	0.026	1.252	0.006	2.081	0.012	1.812
1,2-二氯乙烷	0.005	1.99	0.013	0.597	0.009	2.366	0.016	1.343
甲醇	0.023	1.868	0.034	2.554	0.07	1.009	0.025	2.394
乙腈	0.014	1.929	0.022	3.177	0.041	0.971	0.028	2.818
二氯甲烷	0.014	1.739	0.02	2.088	0.029	0.928	0.019	0.938
叔丁醇	0.01	1.621	0.016	2.144	0.038	1.077	0.02	1.798
反式-1,2-二氯乙烯	0.008	1.627	0.015	1.572	0.022	0.754	0.013	0.913
顺式-1,2-二氯乙烯	0.005	1.735	0.015	2.12	0.014	0.912	0.023	1.05
四氢呋喃	0.006	1.414	与反式-1,2-二氯乙烯共流出		0.013	0.898	与反式-1,2-二氯乙烯共流出	
环己烷	0.007	1.152	0.009	1.352	0.012	0.617	0.008	1.549
甲基环己烷	0.004	2.778	0.011	1.348	0.006	0.662	0.009	1.667
1,4-二氧六环	0.003	2.051	0.011	2.73	0.01	0.963	0.017	2.471
MIBK	0.004	1.446	0.014	1.126	0.006	0.721	0.023	0.653
CPME	与 MIBK 共流出		0.016	1.672	与 MIBK 共流出		0.016	0.846
甲苯	0.003	1.653	0.012	1.864	0.005	0.897	0.017	1.075
氯苯	0.004	1.801	0.024	2.072	0.004	0.952	0.008	1.091
乙苯	0.005	1.723	0.006	1.687	0.003	0.893	0.021	1.084
间二甲苯	0.003	1.748	0.032	1.445	0.004	0.903	0.018	1.069
对二甲苯	与间二甲苯共流出		0.006	1.76	与间二甲苯共流出		0.019	1.159
邻二甲苯	0.005	1.816	0.025	1.931	0.004	1.067	0.016	1.046
异丙苯	0.004	2.232	0.028	1.759	0.003	0.819	0.011	1.09
己烷	0.01	1.944	0.012	1.729	0.021	2.851	0.022	1.452
硝基甲烷	0.009	2.227	0.009	3.111	0.017	1.794	0.019	3.882
氯仿	0.008	2.138	0.009	1.691	0.011	0.95	0.024	1.26
1,2-二甲氧基乙烷	0.009	1.255	0.023	2.511	0.012	2.656	0.033	3.453
三氯乙烯	0.006	2.1	0.018	2.053	0.006	1.373	0.036	1.315
吡啶	0.006	0.691	0.035	3.299	0.007	1.55	0.045	2.932
2-己酮	0.003	0.646	0.008	0.852	0.007	1.577	0.022	1.611
四氯化萘	0.003	1.796	0.006	1.381	0.005	1.706	0.006	1.292

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

www.agilent.com/gc/8850

DE18849468

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司, 2024
2024年5月16日, 中国出版
5994-7408ZHCN

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

