

使用 Agilent Intuvo 9000 气相色谱系统进行残留溶 剂分析

技术优势：芯片式流路模块化设计简化
双柱分析

前言

USP <467> 规定了一种分析药物中残留溶剂的方法。在产品生产过程中选择合适的溶剂可提高产量或影响所合成产品的化学特性。但是，溶剂并不能增强产品的功效，所以必须尽可能多地将其去除以满足产品规格要求和药品生产质量管理规范¹。因此，在生产或纯化工艺中测试残留溶剂是生产过程的一个必要环节。

USP <467> 规定的单柱分析需要在配备另一根保留时间不同的分析柱的另一台系统上进行确认。对传统的气相色谱系统来说，这种分析方法需要进行两次单独的分析。Agilent Intuvo 9000 气相色谱系统配备用于双火焰离子化检测器 (FID) 的进样口分流器，可在单次运行中进行两次分析，分析时间缩短一半。



如需了解更多信息，请访问：
www.agilent.com

实验部分

Intuvo 9000 气相色谱系统配备有 Agilent 7697A 顶空进样器。制备 1 类、2A 类和 2B 类标准溶液，并根据 USP <467> 方法对其进行评估。将安捷伦浓缩安瓿瓶（部件号 5190-0490）中的 1 mL 标准品和 9 mL 二甲亚砜用水稀释至 100 mL，制备 1 类溶液（储备液 1）。将 1 mL 储备液 1 用水稀释至 100 mL 制备储备液 2。最后，将 10 mL 储备液 2 用水稀释至 100 mL 制备储备液 3。储备液 3 用于顶空样品瓶的样品前处理。

分别将 1 mL 安捷伦 2A 类（部件号 5190-0492）和 2B 类（部件号 5190-0513）标准品用水稀释至 100 mL 制备各自的标准溶液。

将 1 mL 各类稀释溶液加入到 5 mL 水中制备顶空样品瓶。

使用 7697A 顶空进样器以及配有双柱、双检测器进样口分流器的 Intuvo 9000 气相色谱系统分析重复样品。

表 1 和表 2 中展示的仪器参数和之前的研究²中用到的参数基本相同。为了反映该应用中色谱柱性能的改进，我们选择了不同的色谱柱：Agilent DB-624 Select 超高惰性 (UI) 色谱柱和 Agilent DB-WAX 超高惰性 (UI) 色谱柱。添加的芯片式保护柱和总线是 Intuvo 9000 气相色谱系统的独有部件。引入的样品较为干净，因而选择跳线芯片。将其与进样口保持相同温度，使样品从进样口通过跳线芯片转移到进样口分流器。总线采用默认设定值。

表 1. Agilent Intuvo 9000 气相色谱系统的仪器条件

| Agilent Intuvo 9000 气相色谱仪 | 设定值 |
|---|---|
| 柱温箱 | 40 °C (5 分钟)，以 15 °C/min 升至 180 °C (3 分钟) |
| 分流/不分流进样口 | 分流比 5:1, 140 °C |
| DB-624 Select 超高惰性色谱柱 (123-0334UI-INT) 30 m × 320 µm, 1.8 µm | 恒模式流, 2 mL/min |
| DB-WAX 超高惰性色谱柱 (123-7032UI-INT) 30 m × 320 µm, 0.25 µm | 由色谱柱 1 控制 |
| FID (前和后) | 250 °C |
| H ₂ | 30 mL/min |
| 空气 | 400 mL/min |
| N ₂ (尾吹) | 25 mL/min |
| 跳线芯片 | 140 °C |
| 总线温度 | 200 °C |
| 前/后信号 | 20 Hz |

表 2. Agilent 7697A 顶空进样器的仪器条件

| Agilent 7697A 顶空进样器 | 设定值 |
|---------------------|--|
| 柱温箱 | 85 °C |
| 定量环温度 | 85 °C |
| 传输线温度 | 100 °C |
| 样品瓶平衡时间 | 40 分钟 |
| 进样持续时间 | 0.5 分钟 |
| 样品瓶规格 | 10 mL |
| 样品瓶振荡 | 振幅 2 级, 25 次振荡 / 分钟 |
| 样品瓶填充模式 | 默认值 (以 50 mL/min 升至 15 psi, 保持 0.1 分钟) |
| 样品瓶填充压力 | 15 psi |
| 定量环升压速率 | 20 psi/min |
| 定量环最终压力 | 0 psi |
| 定量环平衡时间 | 0.05 分钟 |



Agilent 7697A 顶空进样器

结果与讨论

每种溶剂标准品（1类、2A类和2B类）准备九个顶空样品瓶，用于评估重现性（峰面积和保留时间）。对于评估的三类标准溶液，两根色谱柱均展现出了出色的保留时间重现性。大多数分析物的保留时间重现性相对标准偏差 (RSD) 均低于 0.1%。峰面积重现性同样出色，所有分析物在两根色谱柱上的 RSD 均未超过 5%。多数分析物的峰面积 RSD 未超过 2%。表 1-3 给出了三类标准溶液在双柱上的保留时间和峰面积重现性测定值。

1类标准溶液的峰面积 RSD 最高（表 3）。由于 1类标准溶液经过多级稀释，其最终浓度在三类受评估溶液中最低。由于这是对样品前处理重现性、仪器精度和峰积分一致性的测量，因而这种稀释方式会导致更大的误差。

2A类标准溶液具有最佳的峰面积精度（表 4），这很可能是因为其用于评估的浓度高于 1类和 2B类。2B类标准溶液的浓度范围更宽，这在其更宽的峰面积 RSD 范围中得到了体现（表 5）。对于浓度较低或具有较高不对称性的分析物（正己烷、硝基甲烷和 1,2-二甲氧基乙烷），其峰面积 RSD 比具有高响应和对称峰形的分析物（四氯化萘）略高。无论类别、响应或对称性如何，保留时间重现性均非常出色。除硝基甲烷 (0.4%) 外，其他分析物的保留时间重现性指标 (RSD) 均不超过 0.2%，其中大多数甚至低于 0.1%。

表 3. 使用 Agilent Intuvo 9000 气相色谱系统上的进样口分流器评估 1 类化合物的保留时间精度和峰面积重现性

| 化合物 | Agilent DB-624 | Agilent DB-624 | Agilent DB-WAX | Agilent DB-WAX |
|------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| | 保留时间 RSD (%) | 峰面积 RSD (%) | 保留时间 RSD (%) | 峰面积 RSD (%) |
| 1,1-二氯乙烷 | 0.031% | 3.3% | 0.074% | 2.1% |
| 1,1,1-三氯乙烷 | 0.026% | 2.6% | 0.037% | 1.8% |
| 四氯化碳 | 0.11% | 4.8% | 与 1,1,1-三氯乙烷共洗脱 | 与 1,1,1-三氯乙烷共洗脱 |
| 苯 | 0.017% | 2.2% | 0.055% | 1.5% |
| 1,2-二氯乙烷 | 0.016% | 3.9% | 0.067% | 1.8% |

表 4. 使用 Agilent Intuvo 9000 气相色谱系统上的进样口分流器评估 2A 类化合物的保留时间精度和峰面积重现性

| 化合物 | Agilent DB-624 | Agilent DB-624 | Agilent DB-WAX | Agilent DB-WAX |
|-------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | 保留时间 RSD (%) | 峰面积 RSD (%) | 保留时间 RSD (%) | 峰面积 RSD (%) |
| 甲醇 | 0.23% | 1.3% | 0.22% | 1.3% |
| 乙腈 | 0.023% | 2.1% | 0.039% | 2.0% |
| 二氯甲烷 | 0.018% | 0.98% | 0.033% | 0.78% |
| 反式-1,2-二氯乙烯 | 0.016% | 0.85% | 0.023% | 0.72% |
| 顺式-1,2-二氯乙烯 | 0.012% | 0.76% | 0.039% | 0.78% |
| 四氢呋喃 | 0.018% | 0.95% | 与二氯甲烷共洗脱 | 与二氯甲烷共洗脱 |
| 环己烷 | 0.011% | 0.96% | 0.013% | 0.96% |
| 甲基环己烷 | 0.0087% | 0.98% | 0.018% | 0.96% |
| 1,4-二氧六环 | 0.012% | 1.9% | 0.025% | 1.7% |
| 甲苯 | 0.0073% | 0.81% | 0.029% | 0.80% |
| 氯苯 | 0.0061% | 0.69% | 0.024% | 0.69% |
| 乙苯 | 0.0060% | 0.84% | 0.016% | 0.86% |
| 间二甲苯 | 0.0061% | 0.82% | 0.017% | 0.82% |
| 对二甲苯 | 与间二甲苯共洗脱 | 与间二甲苯共洗脱 | 0.015% | 0.83% |
| 邻二甲苯 | 0.0059% | 0.81% | 0.026% | 0.81% |

表 5. 使用 Agilent Intuvo 9000 气相色谱系统上的进样口分流器评估 2B 类化合物的保留时间精度和峰面积重现性

| 化合物 | Agilent DB-624 | Agilent DB-624 | Agilent DB-WAX | Agilent DB-WAX |
|------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | 保留时间 RSD (%) | 峰面积 RSD (%) | 保留时间 RSD (%) | 峰面积 RSD (%) |
| 己烷 | 0.021% | 4.4% | 0.039% | 4.5% |
| 硝基甲烷 | 0.42% | 4.9% | 0.018% | 2.5% |
| 三氯甲烷 | 0.0099% | 4.8% | 0.026% | 3.2% |
| 1,2-二甲氧基乙烷 | 0.013% | 3.6% | 0.089% | 3.6% |
| 三氯乙烷 | 0.010% | 3.4% | 0.028% | 3.1% |
| 吡啶 | 0.020% | 1.7% | 0.034% | 1.7% |
| 2-己酮 | 0.0081% | 2.7% | 0.020% | 0.74% |
| 四氯化萘 | 0.0078% | 2.1% | 0.016% | 2.1% |

使用 7697A 顶空进样器和 Intuvo 9000 气相色谱系统实现的双柱分析同样可以提供出色的色谱性能，证明了双柱同时运行具有的优越性。在 1 类标准溶液中，四氯化碳显示出的信噪比足以满足 USP <467> 的要求（图 1）。DB-624 Select UI 色谱柱

和 DB-WAX UI 色谱柱均显示了出色的峰对称性和相似的响应。DB-624 Select UI 中 1,1,1-三氯乙烷和四氯化碳良好的分离与其在 DB-WAX UI（图 2）中难以分离的情况对比，为同时进行双柱评估的实用性提供了实例。

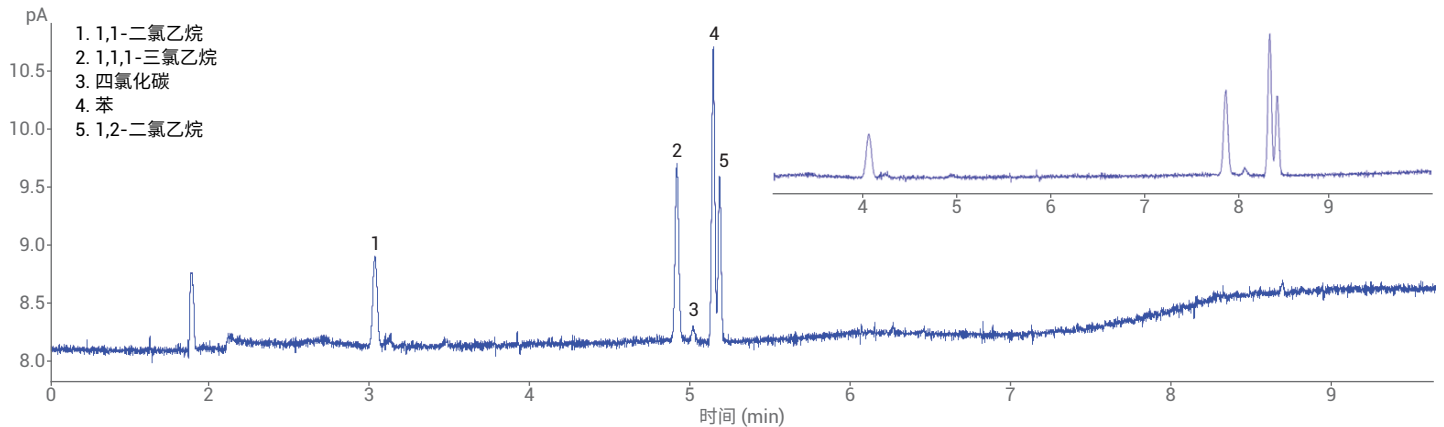


图 1. 在 Agilent DB-624 Select UI 色谱柱上对 1 类残留溶剂进行分析，可以得到出色的色谱分析结果，并满足所有溶剂（包括四氯化碳）的信噪比要求

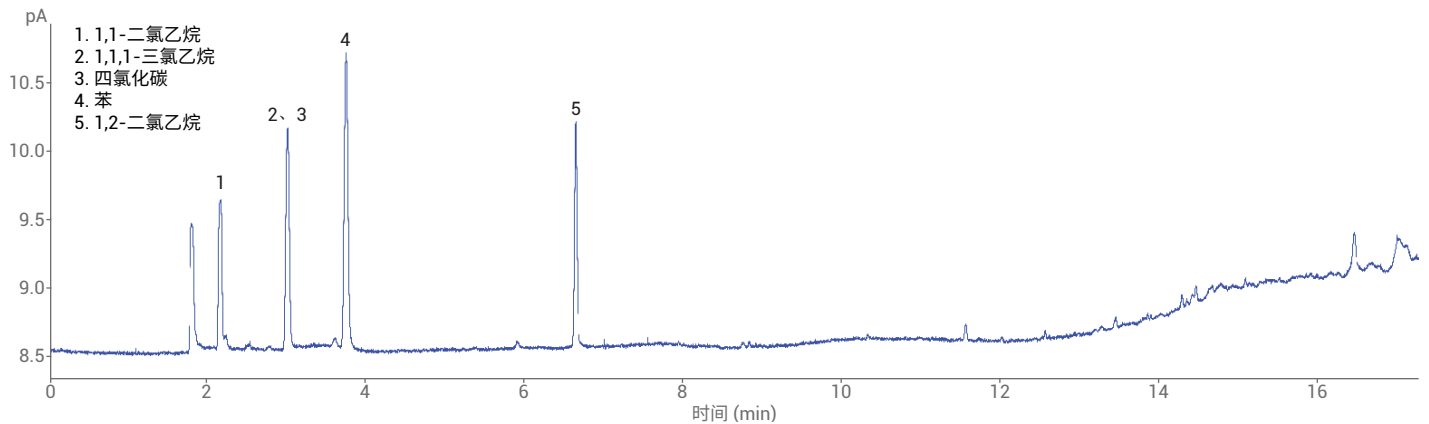


图 2. 在 Agilent DB-WAX UI 色谱柱上对 1 类化合物进行分析，洗脱顺序与 Agilent DB-624 Select UI 色谱柱相同，而保留时间如预期发生了偏移

对于评估的溶剂，2A 类标准溶液也表现出了出色的峰对称性。可观察到 DB-624 Select UI 和 DB-WAX UI 色谱柱间洗脱顺序的显著变化，这与根据固定相的差别而预期的结果一致（图 3 和图 4）。与 1 类溶剂在 DB-624 Select UI 色谱柱上关键分析物（四氯化碳）的分离度更高相反，DB-Wax UI 色谱柱可为 2A 类中的二甲苯

异构体提供更好的分离度。这凸显了同时运行两柱的优势。DB-624 Select UI 色谱柱对 1 类标准溶液具有更好的性能，DB-WAX UI 色谱对 2A 类标准溶液具有更好的性能，因此将二者在同一个系统上运行，可同时为两种类别提供最佳色谱分析。

2B 类标准溶液为使用双柱同时进行 USP <467> 残留溶剂分析的优势提供了最终实例。硝基甲烷在 DB-624 Select UI 色谱柱上响应较低且峰形不对称（图 5，峰 2）。而在 DB-WAX UI 色谱柱上，其峰形和响应均得到改善（图 6）。硝基甲烷在 DB-624 Select UI 色谱柱和 DB-WAX UI 色谱柱间峰面积 RSD 的改善也同样反映了这一现象。

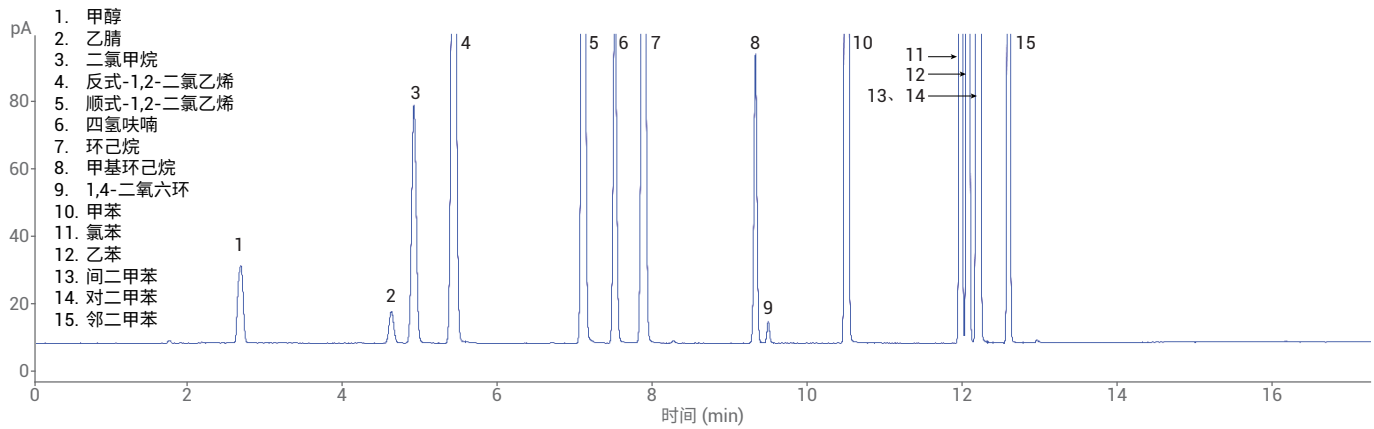


图 3. Agilent DB-624 Select UI 色谱柱上的 2A 类化合物分析显示出了出色的峰形

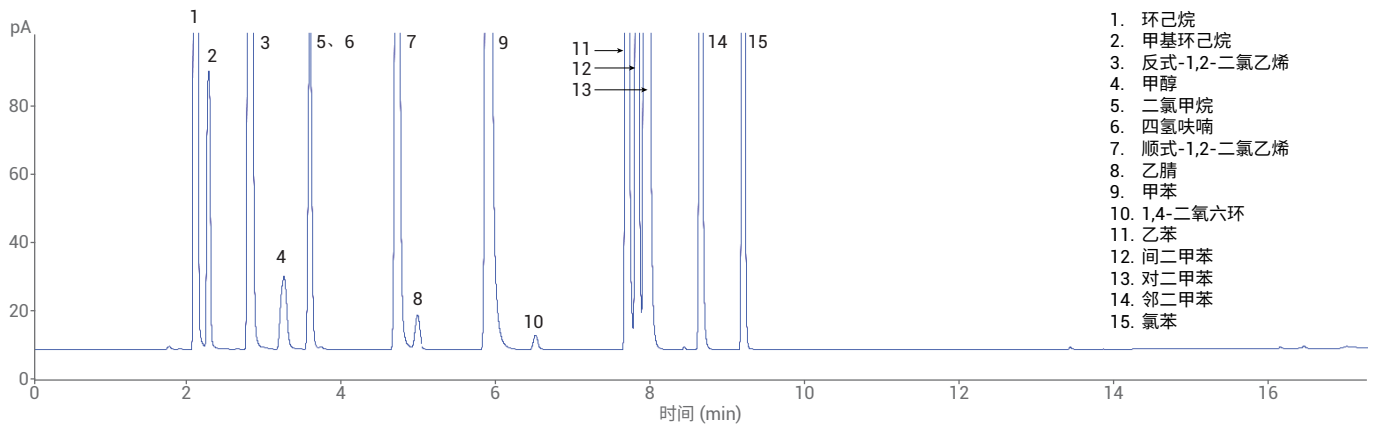


图 4. Agilent DB-WAX UI 色谱柱上的 2A 类化合物分析表明洗脱顺序发生了改变

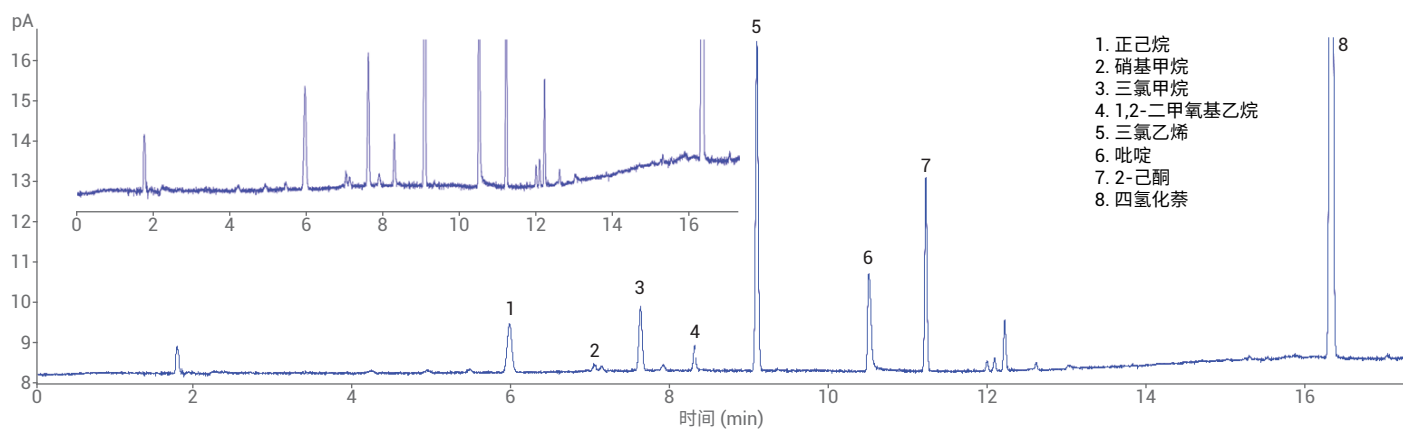


图 5. Agilent DB-624 Select UI 色谱柱上的 2B 类残留溶剂分析在这一系列的响应中均获得了出色的峰形

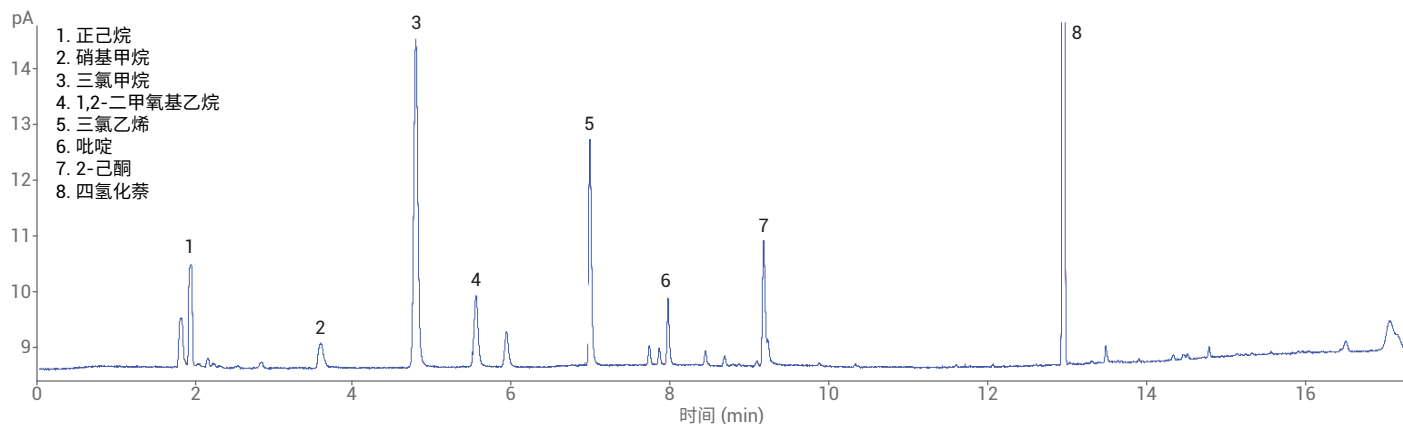


图 6. Agilent DB-WAX UI 色谱柱上的 2B 类残留溶剂分析表明硝基甲烷的峰形有所改善

结论

将配备 Agilent 7697A 顶空进样器的 Agilent Intuvo 9000 气相色谱系统配置为双柱双 FID 系统，该系统具有出色的重现性。使用该系统得到的结果，与之前出版的 USP <467> 在传统单柱气相色谱系统上得到的结果^{2,3}一致。九个顶空样品瓶的峰面积精度均未超过 5%，保留时间重现性均未超过 0.2%。

使用双柱同时进行 USP <467> 残留溶剂评估具有更多优势。1 类残留溶剂在 Agilent DB-624 Select UI 色谱柱上具有最佳分离度，而 2A 类中的二甲苯异构体在 Agilent DB-WAX UI 色谱柱上实现了完全分离。通过为 Intuvo 9000 气相色谱配置进样口分流器，可同时运行两个色谱柱，从而利用两种固定相实现色谱性能的提升。此配置无需将样品在具有不同色谱柱的两个不同系统中运行两次，可以将总分析时间缩短一半。

将 7697A 顶空进样器与配有用于双柱双 FID 分析的进样口分流器的 Intuvo 9000 气相色谱系统相结合，可为分析 USP <467> 残留溶剂提供一种稳定直接的方法，同时还可缩短分析时间。

参考文献

1. USP 40, general chapter USP <467> Residual Solvents, <https://hmc.usp.org/sites/default/files/documents/HMC/GCs-Pdfs/c467.pdf> (accessed October 2017)
2. Firor, R. L. 使用 Agilent 7697A 顶空进样器以更高的重现性进行 USP <467> 残留溶剂分析, 安捷伦科技公司应用简报, 5990-7625CHCN, **2012** 年 8 月
3. B. Tienport, F. David, P. Sandra. 采用配有 Agilent 7697A 顶空进样器的 Agilent 7890B 气相色谱仪分析 USP <467> 残留溶剂, 安捷伦科技公司应用简报, 5991-1834CHCN, **2013** 年 1 月

查找当地的安捷伦客户中心:

www.agilent.com/chem/contactus-cn

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

www.agilent.com/chem/intuvo

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, 2018
2018年2月23日, 中国出版
5991-9029ZHCN