

# 使用 Agilent 8697 顶空进样器-XL Tray 以及 Agilent 8890 气相色谱系统分析 USP <467> 残留溶剂

## 作者

Youjuan Zhang  
安捷伦科技有限公司,  
中国上海

## 摘要

本应用简报介绍了浓度限值水平下美国药典 (USP) <467> 1 类、2A 类和 2B 类残留溶剂的分析。结合使用 Agilent 8697 顶空进样器-XL Tray 和双通道 GC/FID 系统, 可得出色的峰形、分离度和重现性。分别对氮气和氮气载气进行了测试, 两者均提供了优于 USP <467> 要求的出色结果。

## 前言

药品中的残留溶剂被定义为在原料药或辅料的生产或药品的制备过程中使用或产生的有机挥发性化学物质。USP 方法 <467><sup>[1]</sup> 定义了残留溶剂的类别、风险评估和分析程序。USP 还与国际人用药品注册和医药技术协调会议 (ICH) 残留溶剂三方协调指南 Q3C (R8) 方法保持一致<sup>[2]</sup>。

根据 USP <467> 2019 年和 2020 年的临时修订声明，将甲基异丁基酮 (MIBK) 添加到 2 类溶剂列表中。在 2A 类流程 B 的系统适用性测试中，MIBK 和顺式-二氯乙烯之间的分离度应不低于 1。根据 2021 年 ICH Q3C (R8)，建议将环戊基甲醚 (CPME) 和叔丁醇 (TBA) 添加到 USP <467> 2 类列表中。

USP <467> 方法中提到了三种载气：氦气、氮气和氢气。氦气作为载气时具有出色的性能，被广泛使用。然而，持续的氦气短缺对实验室运营造成了影响，并导致了成本问题。氮气在作为载气时成本较低且性能出色，也得到了广泛的应用。在本应用简报中，对于大多数分析物，使用氮气的方法分离度完全满足要求。因此，氮

气载气是一种实际可行的选择，既可以提供良好的分离，也不会出现氦气的供应与成本问题或氢气的安全问题。在本应用简报中，将氮气和氦气都作为载气进行了研究。通过优化采集参数，以氮气为载气获得的结果与以氦气为载气获得的结果相当。结果表明，整个系统具有出色的性能和可靠性。

本研究使用全新设计的 8697-XL Tray 以及双柱和双-FID 气相色谱系统进行残留溶剂分析。8697-XL Tray 与气相色谱仪完全集成，可自动完成检测和配置，如图 1 所示。智能 Agilent 8890 气相色谱仪系统内置关键的 HSS 智能诊断测试功能，使气相色谱仪与 HSS 的交互比以往任何时候都更加紧密。在 8890 触摸屏上可以轻松找到所有 HSS 和 GC 测试。在样品测试之前进行这些测试可以防止整个系统的泄漏，大大降低了发生意外停机的可能性。

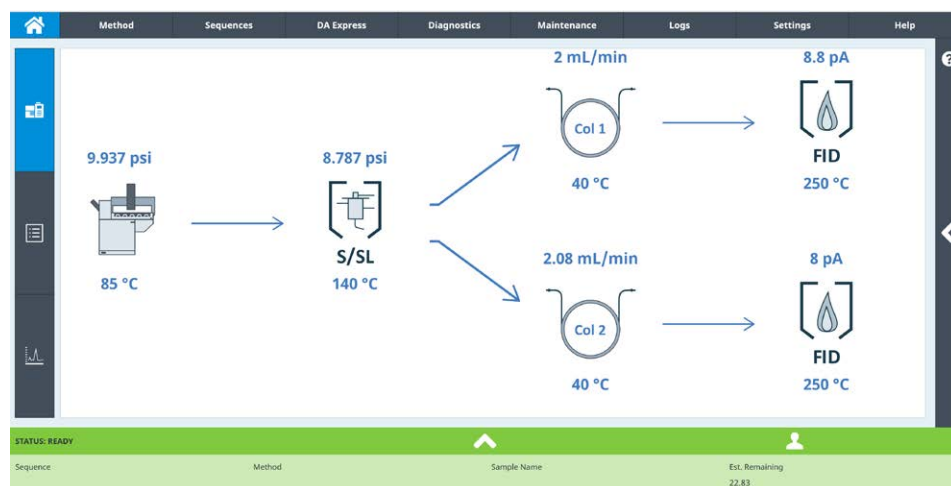


图 1. Agilent 8890 气相色谱系统双通道配置流程图 (摘自浏览器界面)

## 实验部分

USP <467> 介绍了用于评估所有 1 类和 2 类残留溶剂水平的三个分析流程（流程 A、B、C）。流程 A 使用 G43 固定相 (624 型色谱柱) 进行初步鉴定和限值检测。流程 B 使用 G16 固定相 (WAX 型色谱柱) 确认溶剂是否超过流程 A 中的浓度限。如果溶剂不满足使用流程 A 和 B 的标准, 则

通过流程 C 使用 G43 或 G16 固定相进行定量测试。在本应用简报中, 将流程 A 和 B 合并为单个双柱双-FID 配置。如图 2 所示, 样品通过 8697-XL Tray 引入, XL Tray 与 8890 的分流/不分流进样口直接连接。使用不带吹扫功能的两通分流器将样品按 1:1 分流至 Agilent DB-Select 624 UI 色谱柱和 Agilent DB-WAX UI 色谱柱, 并通过相关的 FID 检测化合物。

将氦气和氮气用作载气, 它们表现出相似的性能。当使用氦气作为载气时, 方法参数基于安捷伦之前发表的论文<sup>[3]</sup>, 如表 1 所示。当使用氮气作为载气时, 除乙腈和 MIBK 外, 其余化合物均获得了与使用氦气时相似的分离度。为了提高分离度, 在氮气载气方法中使用较低的初始柱温箱温度 (38 °C)、较低的色谱柱流速 (1.5 mL/min) 以及较低的定量环最终压力 (2 psi)。

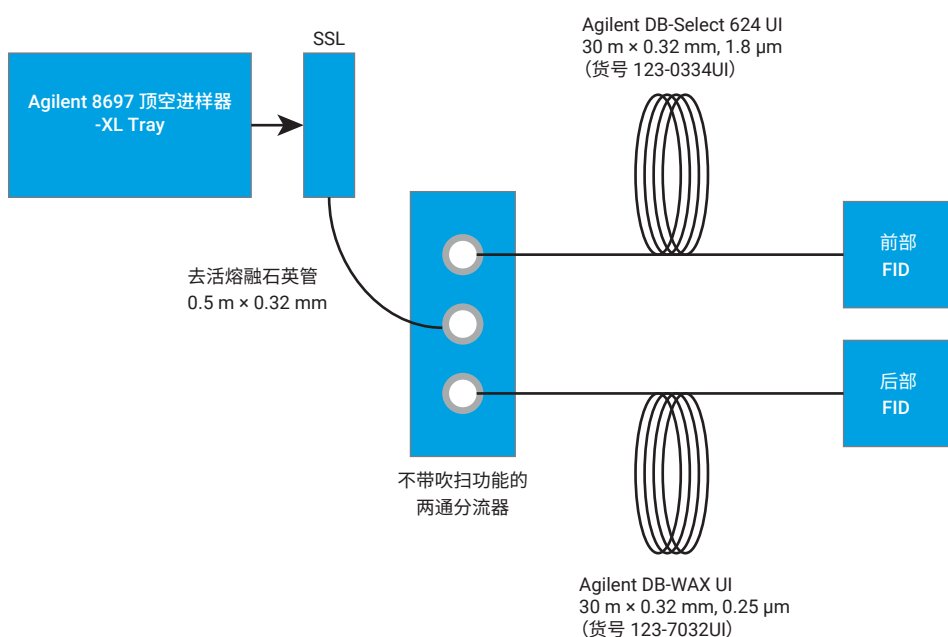


图 2. 用于残留溶剂分析的双柱、双 FID 气相色谱系统

表 1. 色谱条件

Agilent 8697 顶空进样器-XL Tray	
参数	值
样品瓶加压气体	N <sub>2</sub>
定量环规格	1 mL
样品瓶规格	20 mL
样品瓶振荡	震荡水平: 8, 188 次震荡/分钟, 加速度 770 cm/s <sup>2</sup>
样品瓶待机流速	20 mL/min
样品瓶平衡时间	40 min
进样时间	0.5 min
柱温箱温度	85 °C
定量环温度	85 °C
传输线	0.53 mm 内径去活熔融石英管 (货号 160-2535-5)
传输线温度	100 °C
样品瓶填充压力	15 psi
定量环填充模式	定制
定量环升压速率	40 psi/min
定量环最终压力	氮气载气: 4 psi 氮气载气: 2 psi
定量环平衡时间	0.05 min
Agilent 8890 GC	
参数	值
隔垫	9 mm 顶空 (货号 5183-4801)
进样口	SSL, 140 °C, 分流比 10:1
衬管	直型, 去活, 2 mm 内径 (货号 5181-8818)
CFT 装置	不带吹扫功能的两通分流器 (货号 G3181B)
色谱柱	色谱柱 1: Agilent DB-Select 624 UI, 30 m × 0.32 mm, 1.8 μm (货号 123-0334UI) 色谱柱 2: Agilent DB-WAX UI 30 m × 0.32 mm, 0.25 μm (货号 123-7032UI)
载气	氮气载气: 2 mL/min, 恒流模式 氮气载气: 1.5 mL/min, 恒流模式
管线	去活熔融石英管线 (货号 160-2625-10)
柱温箱	氮气载气: 40 °C (5.5 min), 然后以 15 °C/min 的速率升至 180 °C, 保持 2.5 min 氮气载气: 38 °C (5.5 min), 然后以 15 °C/min 升至 180 °C, 保持 4 min
FID (两个通道)	温度: 250 °C, 氢气: 30 mL/min, 空气: 300 mL/min, 补偿气 (N <sub>2</sub> ): 25 mL/min
数据采集速率	5 Hz

## 试剂与标准品

溶于二甲亚砜 (DMSO) 的三种残留溶剂标准品来自安捷伦科技公司:

- **1 类:** 1 类残留溶剂修订方法 467 (货号 5190-0490)
- **2A 类:** 2A 类残留溶剂修订方法 467 (货号 5190-0492)
- **2B 类:** 2B 类残留溶剂修订方法 467 (货号 5190-0491)

甲基异丁基酮 (MIBK)、环戊基甲醚 (CPME)、叔丁醇 (TBA) 和异丙苯单标购自 Alta Scientific Co. Ltd.。

将 MIBK、CPME、TBA 和异丙苯加标至 2A 类溶液中。用去离子水按各自的浓度限值制备 1 类、2A 类和 2B 类残留溶剂。将 6 mL 每种溶液分液到 20 mL 顶空样品瓶中。每种溶剂的最终顶空样品瓶浓度见表 2。

## 结果与讨论

良好的仪器状态是获得出色测试结果的基础。因此，在执行分析之前确保系统运行良好非常重要。新型 8697-XL Tray 采用革命性设计，是一款与气相色谱全面集成并具有内置诊断功能的智能仪器。在 8890 触摸屏或浏览器界面上可以直观地显示顶空参数和诊断状态。如图 3 所示，将自动化诊断集成到 GC 中，用于测试和排除常见的顶空问题。泄漏测试（包括交叉口泄漏测试、限流和压力衰减测试以及传输线泄漏和限流测试）可以确保在执行样品分析之前整个顶空流路无泄漏。用户样品瓶泄漏测试可以帮助检测样品瓶是否正确封盖。

由于所有的 1 类、2A 类和 2B 类溶剂均在其 USP <467> 浓度限值下制备，因此一些溶剂的响应极低，如四氯化碳、1,4-二氧六环、1,2-二甲氧基乙烷和硝基甲烷。与此同时，乙腈和吡啶在 DB-Select 624 UI 色谱柱上不仅响应较低，而且还显示出峰拖尾。这些峰的积分受到基线的显著干扰。因此，在优化积分参数时应特别注意这一点。

### 系统适用性要求

USP <467> 详细规定了 1 类、2A 类和 2B 类残留溶剂的系统适用性要求。这些要求是强制性的。

### 对于流程 A:

- 在 1 类溶液中，1,1,1-三氯乙烷的信噪比 (S/N) 不低于 5
- 在 1 类溶液中，其他峰的信噪比不低于 3
- 在 2A 类溶液中，乙腈和二氯甲烷之间的分离度不低于 1

### 对于流程 B:

- 在 1 类溶液中，苯的信噪比不低于 5
- 在 1 类溶液中，其他峰的信噪比不低于 3
- 在 2A 类溶液中，MIBK 和顺式-二氯乙烯之间的分离度不低于 1

### 氮气载气结果

图 4、图 5 和图 7 展示了使用氮气载气在 DB-Select 624 UI 和 DB-WAX UI 色谱柱上进行的 1 类、2A 类和 2B 类残留溶剂混合物分析。按流程 A 计算得到的 1,1,1-三氯乙烷信噪比值和按流程 B 计算得到的苯信噪比值均远高于 5。其他所有溶剂的信噪比值均超过 3。在流程 A 中，乙腈和二氯甲烷之间的分离度为 3.3。MIBK 和顺式-二氯乙烯之间的分离度为 5。两个关键物质对的分离度均大于可接受标准值 1。实际上，乙腈在顺式-二氯乙烯和 MIBK 之间洗脱，乙腈和 MIBK 之间的分离度为 1.68。

Method	Sequences	DA Express	Diagnostics
Warnings and Errors			
<b>Diagnostic Tests</b>			
System Health Report			
Detector Evaluation Reports			
Blank Evaluation Reports			
Gather Logs			
Gas and Power Usage			
Diagnostic Data Collection			
<b>Front Inlet SS_EPC (4)</b>			
Leak and Restriction Test			
Method Pressure Check			
Pressure Decay Test			
Split Vent Restriction Test			
<b>HeadspaceHCV2 (7)</b>			
Crossport Leak Test			
Gas Supply Pressure Check			
Manual Operations			
Restriction and Pressure Decay Test			
Six Port Rotor Orientation Test			
Transferline Leak and Restriction Test			
User Vial Leak Test			
<b>Instrument (1)</b>			
ELVDS Loopback Test			

图 3. Agilent 8890 气相色谱系统上的 HSS 诊断测试（摘自浏览器界面）

总的来说，在流程 A 中共流出的分析物在流程 B 中实现了良好的分离，包括添加到 2A 类的四种额外溶剂。USP <467> 未详细规定对 2B 类溶剂的性能要求。2B 类溶剂在任何色谱柱上均未出现共流出。但需要注意的是，一些溶剂（例如硝基甲烷和 1,2-二甲氧基乙烷）的响应极低，需要特别注意这些峰的积分。

表 2 列出了所有 1 类、2A 类和 2B 类溶剂在其 USP <467> 浓度限值下的 RSD。每个溶剂类别的运行次数为 10 次。在每个溶剂类别之前运行一个样品空白。大多数 RSD 远低于 2%，最大值为 3.45%。保留时间 RSD 均低于 0.03%，如表 2 和图 8 所示。具有较高 RSD 值的溶剂（例如四氯化碳、1,2-二甲氧基乙烷或硝基甲烷）通常具有较低的分配系数 K（亲水性较差的非极性溶剂）或在浓度限值下具有极低的检测器响应。RSD 结果总体较为出色，表明整个系统具有较高的稳定性和可靠性。

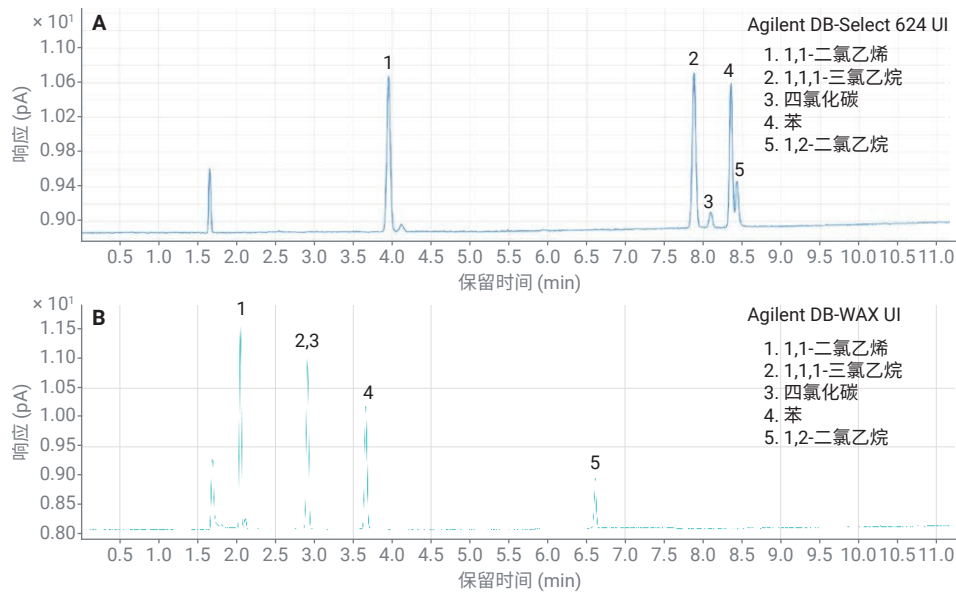


图 4. 以氦气为载气时，1 类标准溶液通过 Agilent DB-Select 624 UI 和 Agilent DB-WAX UI 色谱柱获得的 GC/FID 色谱图

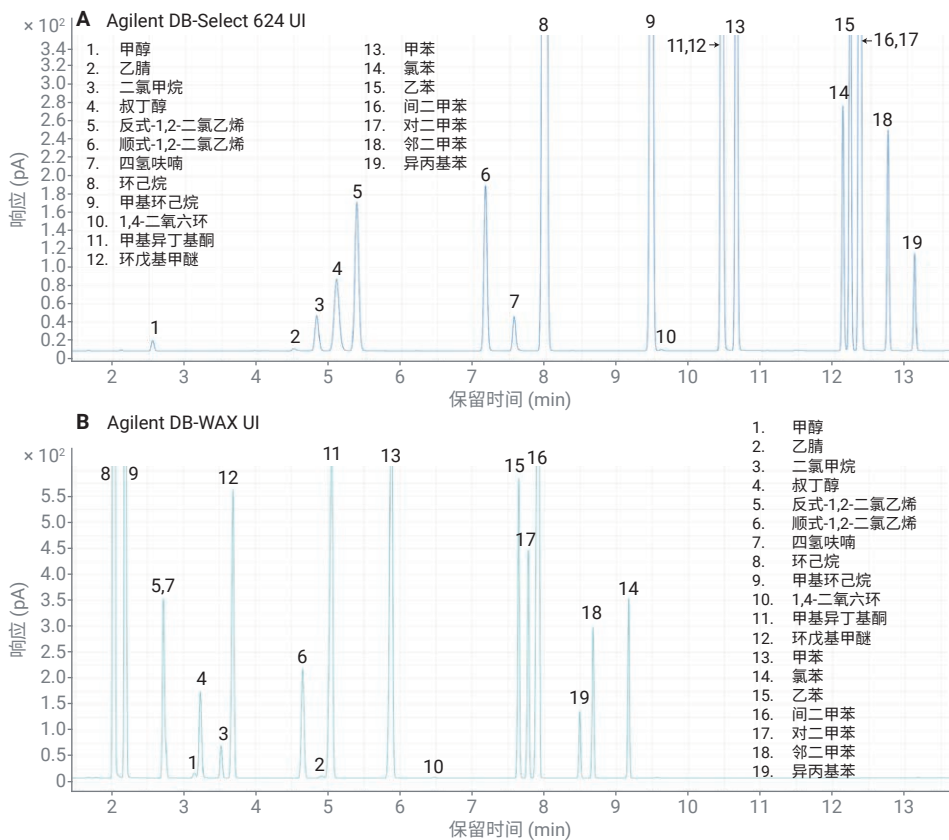


图 5. 以氦气为载气时，2A 类标准溶液通过 Agilent DB-Select 624 UI 和 Agilent DB-WAX UI 色谱柱获得的 GC/FID 色谱图

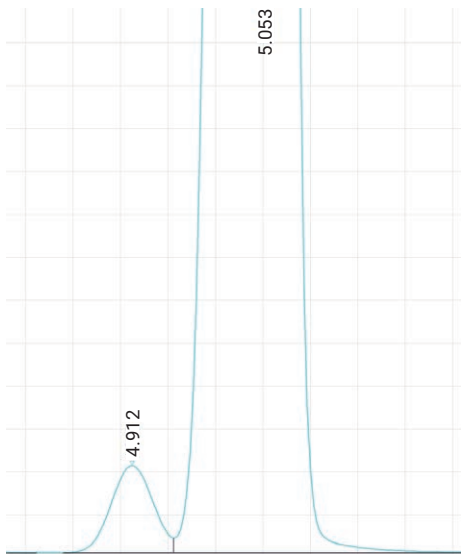


图 6. 以氦气为载气时，Agilent DB-WAX UI 色谱柱上乙腈和 MIBK 之间的 USP 分离度为 1.68

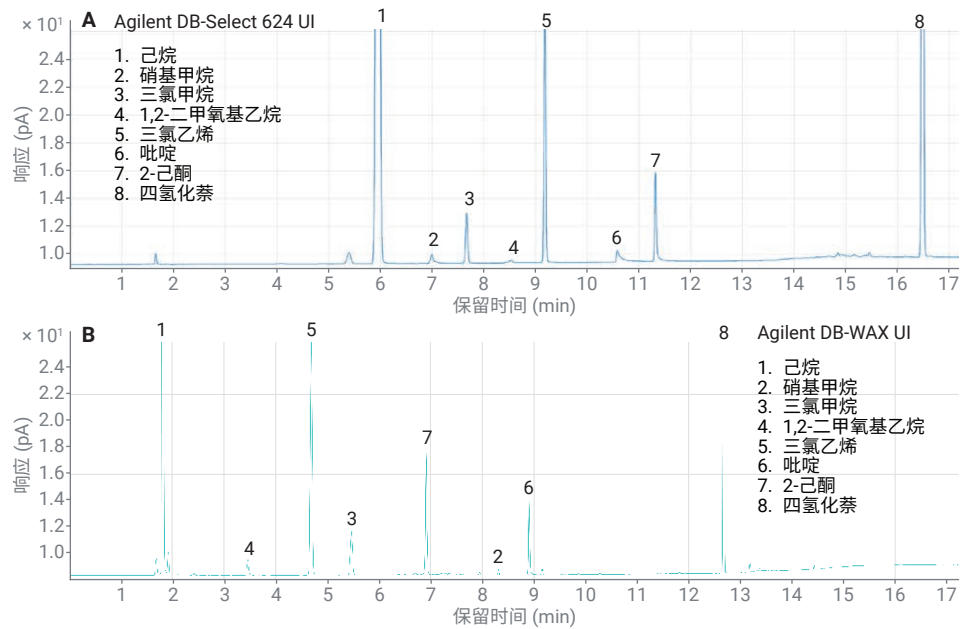


图 7. 以氦气为载气时，2B 类标准溶液通过 Agilent DB-Select 624 UI 和 Agilent DB-WAX UI 色谱柱获得的 GC/FID 色谱图

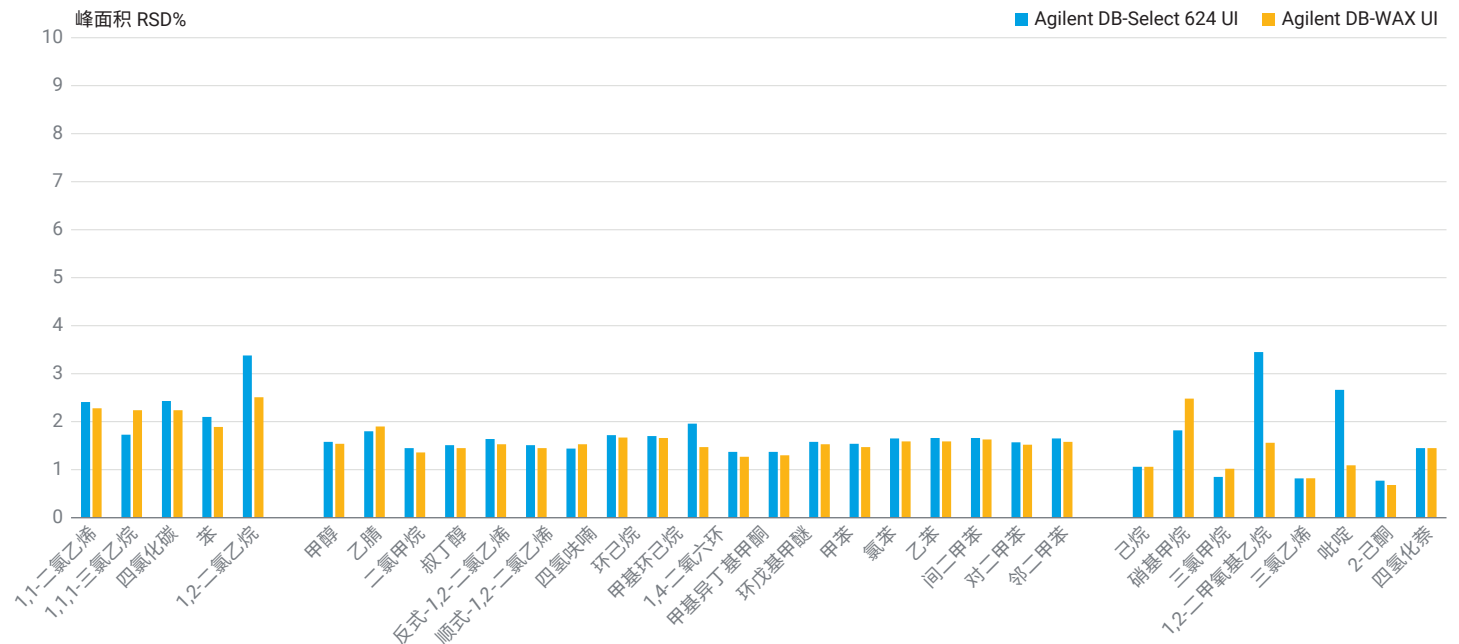


图 8. 以氦气为载气时，所有溶剂通过 Agilent DB-Select 624 UI 和 Agilent DB-WAX UI 色谱柱获得的峰面积 RSD

表 2. 以氦气为载气时，通过 Agilent DB-Select 624 UI 和 Agilent DB-WAX UI 色谱柱获得的残留溶剂、实际顶空样品瓶浓度和重现性 (n = 10)

化合物名称	浓度 (µg/mL)	流程 A (DB-Select 624 UI 色谱柱)		流程 B (DB-WAX UI 色谱柱)	
		保留时间 %RSD	峰面积 %RSD	保留时间 %RSD	峰面积 %RSD
<b>1 类</b>					
1,1-二氯乙烯	0.07	0.011	2.41	0.012	2.28
1,1,1-三氯乙烷	0.08	0.009	1.73	0.012	2.24
四氯化碳	0.03	0.015	2.43	与 1,1,1-三氯乙烷 共流出	与 1,1,1-三氯乙烷 共流出
苯	0.02	0.009	2.1	0.012	1.89
1,2-二氯乙烷	0.04	0.007	3.38	0.007	2.51
<b>2A 类</b>					
甲醇	25	0.014	1.58	0.016	1.54
乙腈	3.42	0.013	1.8	0.013	1.9
二氯甲烷	5.02	0.009	1.45	0.014	1.36
叔丁醇	29.17	0.01	1.51	0.014	1.45
反式-1,2-二氯乙烯	7.87	0.008	1.64	0.013	1.53
顺式-1,2-二氯乙烯	7.87	0.006	1.51	0.014	1.45
四氢呋喃	6.02	0.004	1.44	与反式-1,2- 二氯乙烯共流出	与反式-1,2- 二氯乙烯共流出
环己烷	32.33	0.006	1.72	0.016	1.67
甲基环己烷	9.88	0.005	1.7	0.015	1.66
1,4-二氧六环	3.18	0.005	1.96	0.009	1.47
甲基异丁基甲酮	37.5	0.004	1.37	0.01	1.27
环戊基甲醚	12.5	与 MIBK 共流出	与 MIBK 共流出	0.012	1.3
甲苯	7.45	0.004	1.58	0.009	1.53
氯苯	3	0.004	1.54	0.008	1.47
乙苯	3.08	0.003	1.65	0.007	1.59
间二甲苯	10.88	0.003	1.66	0.014	1.59
对二甲苯	2.55	与间二甲苯共流出	与间二甲苯共流出	0.011	1.63
邻二甲苯	1.64	0.003	1.57	0.013	1.52
异丙苯	0.58	0.002	1.65	0.016	1.58
<b>2B 类</b>					
己烷	2.43	0.022	1.06	0.028	1.06
硝基甲烷	0.42	0.02	1.82	0.01	2.48
三氯甲烷	0.5	0.013	0.85	0.028	1.02
1,2-二甲氧基乙烷	0.83	0.023	3.45	0.029	1.56
三氯乙烯	0.67	0.011	0.819	0.028	0.82
吡啶	1.67	0.007	2.664	0.01	1.092
2-己酮	0.42	0.006	0.77	0.015	0.68
四氯化萘	0.84	0.004	1.45	0.005	1.45



## 氮气载气结果

从氮气改为氮气载气时，调整初始方法参数，使其与氮气方法参数匹配。除乙腈和 MIBK 之间的分离度外，所有溶剂均满足 USP <467> 方法的要求。以氮气为载气，MIBK 和 CPME 在 DB-Select 624 UI 色谱柱上共流出，乙腈和 MIBK 在 DB-WAX UI 色谱柱上的分离度较差。根据 USP <467> 的要求，在流程 A 中发生的任何共流出均应在流程 B 中得到分离，才能获得准确的定量结果。较低的初始柱温箱温度、较低的色谱柱流速以及较低的定量环最终压力有助于提高乙腈和 MIBK 在 DB-WAX UI 色谱柱上的分离度。改进后的分离度 1.17 满足 2A 类溶剂的要求，如图 11 所示。将表 1 所示的优化氮气载气方法也用于 1 类和 2B 类溶剂的采集。所有分析物的结果均满足 USP <467> 的指标要求。图 9、图 10 和图 12 展示了使用氮气载气在 DB-Select 624 UI 和 DB-WAX UI 色谱柱上进行的 1 类、2A 类和 2B 类残留溶剂混合物分析。

表 3 列出了使用优化的氮气方法时 1、2A 和 2B 类溶剂的 RSD，其中每个类别重复运行 10 次。峰面积的典型 RSD 范围为 0.92%–4.44%，保留时间 RSD 均低于 0.03%，如表 3 和图 13 所示。

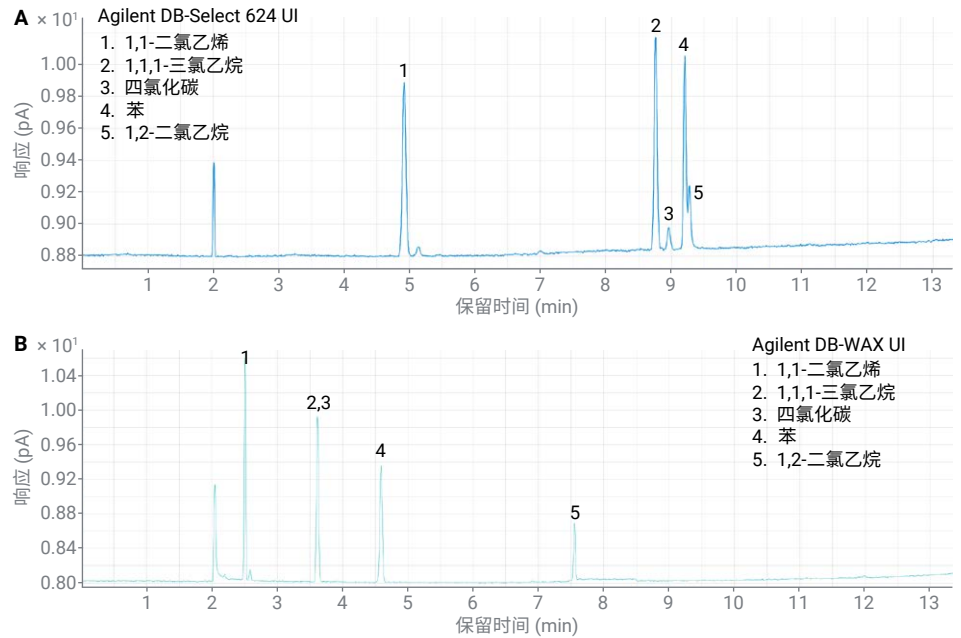


图 9. 以氮气为载气时，1 类标准溶液通过 Agilent DB-Select 624 UI 和 Agilent DB-WAX UI 色谱柱获得的 GC/FID 色谱图

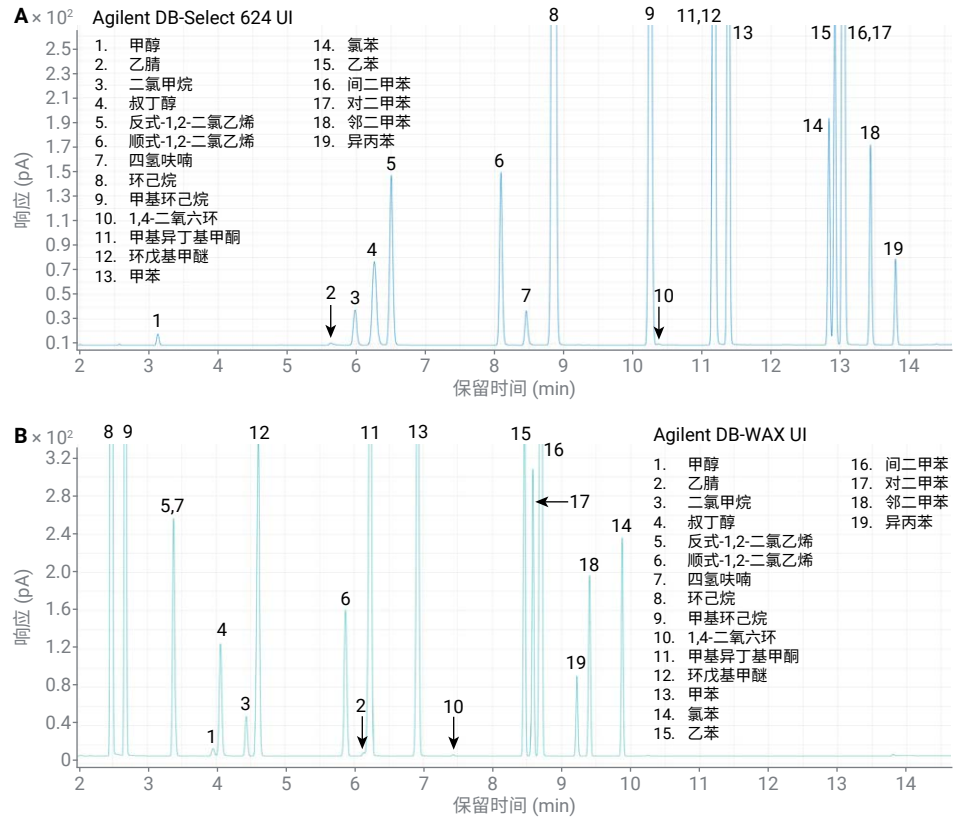


图 10. 以氮气为载气时，2A 类标准溶液通过 Agilent DB-Select 624 UI 和 Agilent DB-WAX UI 色谱柱获得的 GC/FID 色谱图

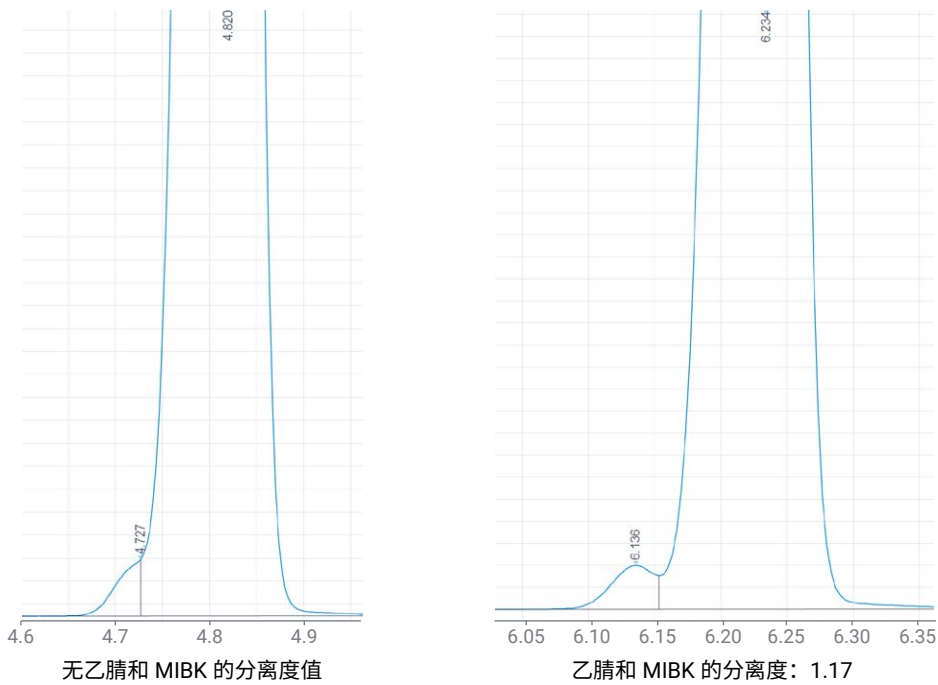


图 11. 以氮气为载气时, Agilent DB-WAX UI 色谱柱上乙腈和 MIBK 之间的 USP 分离度。将使用氮气载气的原始氮气载气方法参数与基于氮气载气的优化方法进行了比较

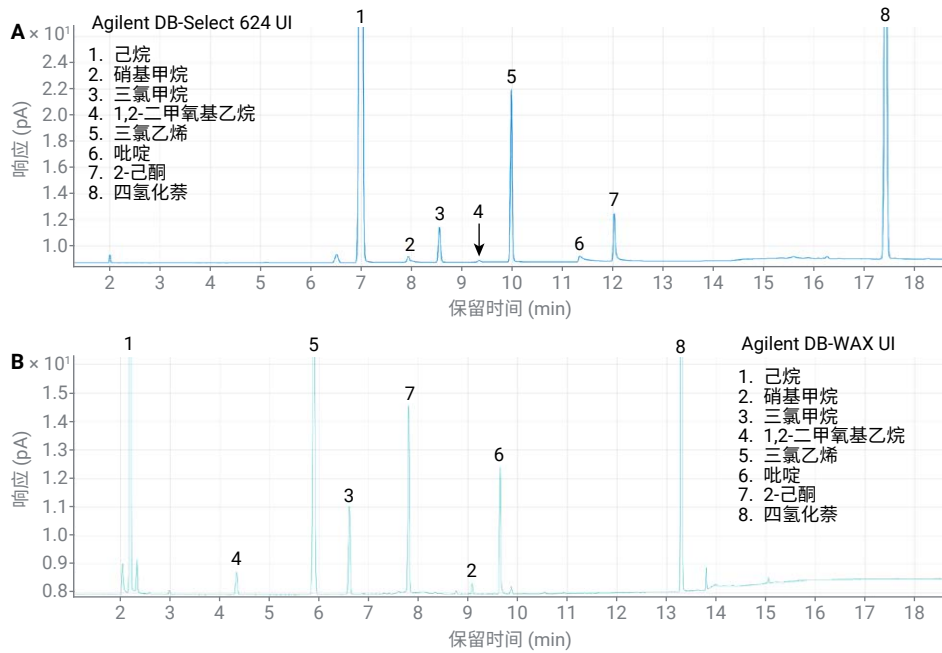


图 12. 以氮气为载气时, 2B 类标准溶液通过 Agilent DB-Select 624 UI 和 Agilent DB-WAX UI 色谱柱获得的 GC/FID 色谱图

表 3. 以氮气为载气时，通过 Agilent DB-Select 624 UI 和 Agilent DB-WAX UI 色谱柱获得的残留溶剂、实际顶空样品瓶浓度和重现性 (n = 10)

化合物名称	浓度 (µg/mL)	流程 A (DB-Select 624 UI 色谱柱)		流程 B (DB-WAX UI 色谱柱)	
		保留时间 %RSD	峰面积 %RSD	保留时间 %RSD	峰面积 %RSD
<b>1 类</b>					
1,1-二氯乙烯	0.07	0.012	1.16	0.01	1.21
1,1,1-三氯乙烷	0.08	0.007	1.26	0.009	4.13
四氯化碳	0.03	0.015	3.33	与 1,1,1-三氯乙烷 共流出	与 1,1,1-三氯乙烷 共流出
苯	0.02	0.006	1.21	0.011	1.12
1,2-二氯乙烷	0.04	0.003	2.19	0.006	1.53
<b>2A 类</b>					
甲醇	25	0.012	1.76	0.007	1.67
乙腈	3.42	0.008	2.05	0.006	2.12
二氯甲烷	5.02	0.004	1.12	0.007	1.11
叔丁醇	29.17	0.008	1.22	0.006	1.22
反式-1,2-二氯乙烯	7.87	0.005	1.19	与四氢呋喃共流出	与四氢呋喃共流出
顺式-1,2-二氯乙烯	7.87	0.003	1.13	0.008	1.12
四氢呋喃	6.02	0.003	1.06	0.007	1.12
环己烷	32.33	0.004	1.23	0.01	1.23
甲基环己烷	9.88	0.004	1.24	0.008	1.25
1,4-二氧六环	3.18	0.004	2.15	0.005	1.43
甲基异丁基甲酮	37.5	0.003	0.97	0.008	1.22
环戊基甲醚	12.5	与 MIBK 共流出	与 MIBK 共流出	0.006	1.01
甲苯	7.45	0.003	1.16	0.007	1.16
氯苯	3	0.001	1.08	0.007	1.11
乙苯	3.08	0.002	1.12	0.003	1.17
间二甲苯	10.88	0.003	1.127	0.013	1.16
对二甲苯	2.55	与间二甲苯共流出	与 间二甲苯共流出	0.01	1.15
邻二甲苯	1.64	0.002	1.13	0.015	1.14
异丙苯	0.58	0.003	1.2	0.015	1.22
<b>2B 类</b>					
己烷	2.43	0.004	1.38	0.007	1.65
硝基甲烷	0.42	0.008	3.06	0.001	3.38
三氯甲烷	0.5	0.004	0.99	0.004	1.16
1,2-二甲氧基乙烷	0.83	0.016	4.44	0.009	2.8
三氯乙烯	0.67	0.002	1.2	0.006	1.49
吡啶	1.67	0.027	4.29	0.013	2.75
2-己酮	0.42	0.002	2.16	0.004	1.01
四氯化萘	0.84	0.003	0.92	0.003	1.12

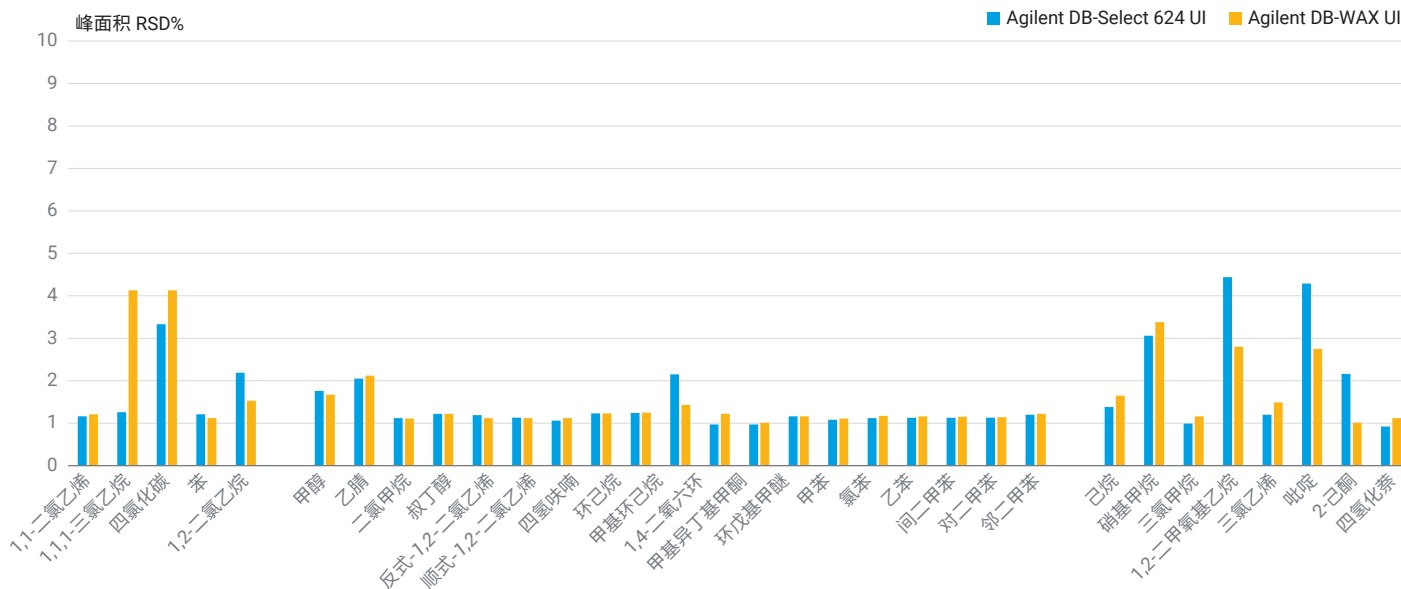


图 13. 以氮气为载气时，所有溶剂通过 Agilent DB-Select 624 UI 和 Agilent DB-WAX UI 色谱柱获得的峰面积 RSD

## 结论

USP <467> 规定使用单柱进行残留溶剂分析，并在另一根色谱柱上进行确认。对于传统的气相色谱系统而言，这种分析方法需要进行两次单独的分析。8890 在一个进样口上配置双柱和双 FID，大大缩短了总分析时间。与气相色谱仪集成的 8697-XL Tray 允许用户在样品测试前进行特定的测试来检查 HSS 是否正确运行。

无论是氮气做载气还是氮气做载气，这套系统都展现了优异的重现性结果。在使用氮气作为载气时，10 次重复运行的峰面积精度低于 3.45%，在使用氮气作为载气时，峰面积精度低于 4.44%。所有分析物的典型保留时间精度均低于 0.03%。

## 参考文献

1. USP <467> Residual Solvents. 467 RESIDUAL SOLVENTS (uspfnf.com)
2. Impurities: Guidance for Residual Solvents Q3C (R8). Q3C(R8) Impurities: Guidance for Residual Solvents Guidance for Industry | FDA
3. Eisele, I., 使用 Agilent Intuvo 9000 气相色谱系统和 8697 顶空进样器进行残留溶剂分析，安捷伦科技公司应用简报，出版号 5994-3075ZHNCN, 2021

查找当地的安捷伦客户中心：

[www.agilent.com/chem/contactus-cn](http://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](mailto:LSCA-China_800@agilent.com)

在线询价：

[www.agilent.com/chem/erfq-cn](http://www.agilent.com/chem/erfq-cn)

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

DE05368004

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, 2023  
2023 年 5 月 10 日, 中国出版  
5994-6020ZHNCN