

赛默飞新一代顶空TriPlus 500分析药品中的溶剂残留

赵紫珺 车金水 王申 赛默飞世尔科技(中国)有限公司色谱质谱部

关键词:

TRACE1310 GC; TriPlus 500; 中国药典(2015版); 溶剂残留

目标

药品中的残留溶剂系指在原料药或辅料的生产中,以及在制剂制备过程中使用的,但在工艺过程中未能完全去除的有机溶剂。残留溶剂不仅没有疗效,其毒性和致癌作用还会对患者产生一定的伤害。

药品中常见的残留溶剂及限度见下表1.除另有规定外,第一、第二、第三类溶剂的残留限度应符合表1中的规定;对于其他溶剂,应根据生产工艺的特点,制定相应的限度,使其符合产品规范、药品生产质量管理规范(GMP)或其他基本的质量要求。

表1. 常见溶剂的分类及其限量

溶剂名称	限度/%	溶剂名称	限度/%	溶剂名称	限度/%	溶剂名称	限度/%
第一类溶剂 (应该避免使用)		第二类溶剂 (应该限制使用)		第三类溶剂 (药品GMP或其他质量要求限制使用)		第三类溶剂 (药品GMP或其他质量要求限制使用)	
苯	0.0002	二氧六环	0.038	醋酸	0.5	丁酮	0.5
四氯化碳	0.0004	2-乙氧基乙醇	0.016	丙酮	0.5	甲基异丁基酮	0.5
1,2-二氯乙烷	0.0005	乙二醇	0.062	甲氧基苯	0.5	异丁醇	0.5
1,1-二氯乙烯	0.0008	甲酰胺	0.022	正丁醇	0.5	正戊烷	0.5
1,1,1-三氯乙烷	0.15	正己烷	0.029	仲丁醇	0.5	正戊醇	0.5
第二类溶剂 (应该限制使用)		甲醇	0.3	乙酸丁酯	0.5	正丙醇	0.5
乙腈	0.041	2-甲氧基乙醇	0.005	叔丁基甲基醚	0.5	异丙醇	0.5
氯苯	0.036	甲基丁基酮	0.005	异丙基苯	0.5	乙酸丙酯	0.5
三氯甲烷	0.006	甲基环己烷	0.118	二甲基亚砷	0.5	第四类溶剂 (尚无足够毒理学资料)	
环己烷	0.388	N-甲基吡咯烷酮	0.053	乙醇	0.5	1,1-二乙基丙烷	
1,2-二氯乙烯	0.187	硝基甲烷	0.005	乙酸乙酯	0.5	1,1-二甲氧基甲烷	
二氯甲烷	0.06	吡啶	0.02	乙醚	0.5	2,2-二甲氧基丙烷	
1,2-二甲氧基乙烷	0.01	四氢噻吩	0.016	甲酸乙酯	0.5	异辛烷	
N,N-二甲基乙酰胺	0.109	四氢化萘	0.01	甲酸	0.5	异丙醚	
N,N-二甲基甲酰胺	0.088	四氢咪喃	0.072	正庚烷	0.5	异丙醚	
1,1,2-三氯乙烯	0.008	甲苯	0.089	乙酸异丁酯	0.5	甲基异丙基酮	
		二甲苯	0.217	乙酸异丙酯	0.5	甲基四氢咪喃	
				乙酸甲酯	0.5	石油醚	
				3-甲基-1-丁醇	0.5	三氯醋酸	
						三氯醋酸	

赛默飞新一代的TriPlus 500顶空自动进样器采用创新设计的气动系统，并在顶空进样阀和GC色谱柱之间采用直接连接的方式。全新的设计给客户带来更精确的进样系统及出色的峰面积稳定性。此外，样品流量的不间断吹扫大大降低了样品及高沸点物质的残留风险，确保了系统的耐用性和数据可靠性。本文参考中国药典（2015版），采用新一代的TriPlus 500顶空自动进样器结合模块化的Trace 1310气相色谱仪，对常见的24种溶剂残留化合物进行分析，为客户提供性能优良的医药行业解决方案。



仪器与耗材

Thermo Fisher Scientific™ TRACE 1310 气相色谱，配分流不分流进样口，FID检测器

Thermo Fisher Scientific™ Chromeleon 7.2数据处理系统

Thermo Fisher Scientific™ TG-624SiIMS 色谱柱 (30×0.32mm×1.8μm, P/N: 26059-3390)

Thermo Fisher Scientific™ GC进样口刃环 (85%Vespel/15%石墨, P/N: 290VA192)

Thermo Fisher Scientific™ 20mL螺口顶空样品瓶 (P/N: 20-HSV)

Thermo Fisher Scientific™ 20mL顶空样品瓶配套磁性螺纹盖 (P/N: 18-MS-C-ST201)

试剂与标准品

本实验中所用试剂均由Fisher公司提供。

工作曲线的制备

两组溶剂配置浓度如表2，表3所示，其中难溶于水的化合物溶解在N,N-二甲基甲酰胺中，易溶于水的则以水为溶剂。

表2. 水中11种溶剂残留标准品配置

序号No.	化合物 Peak Name	药典限值 Limit (μg/mL)	储备液浓度 (μg/mL)	Level 1(μg/mL)	Level 2(μg/mL)	Level 3(μg/mL)	Level 4(μg/mL)	Level 5(μg/mL)
1	Methanol	3000	1500	15	30	75	150	300
2	Ethanol	5000	1500	15	30	75	150	300
3	Acetone	5000	1500	15	30	75	150	300
4	iso-propanol	5000	1500	15	30	75	150	300
5	Acetonitrile	410	800	8	16	40	80	160
6	DCM	600	1000	10	20	50	100	200
7	n-propanol	100	1500	15	30	75	150	300
8	Ethyl acetate	5000	1500	15	30	75	150	300
9	THF	720	800	8	16	40	80	160
10	n-butanol	5000	1500	15	30	75	150	300
11	1,4-Dioxane	5000	1000	10	20	50	100	200

表3. DMF中13种溶剂残留标准品配置

序号No.	化合物 Peak Name	药典限值 Limit (µg/mL)	储备液浓度 (µg/mL)	Level 1(µg/mL)	Level 2(µg/mL)	Level 3(µg/mL)	Level 4(µg/mL)	Level 5(µg/mL)
1	trans-1,2-Dichloroethene	1870	1200	12	24	60	120	240
2	Hexane	290	120	1.2	2.4	6	12	24
3	cis-1,2-Dichloroethene	1870	600	6	12	30	60	120
4	Cyclohexane	3880	800	8	16	40	80	160
5	Benzene	2	16	0.16	0.32	0.8	1.6	3.2
6	Methylcyclohexane	1180	800	8	16	40	80	160
7	Toluene	890	800	8	16	40	80	160
8	Butyl acetate	5000	800	8	16	40	80	160
9	Chlorobenzene	360	200	2	4	10	20	40
10	Ethyl benzene	2170	800	8	16	40	80	160
11	m-Xylene	2170	800	8	16	40	80	160
12	p-Xylene	2170	800	8	16	40	80	160
13	o-Xylene	2170	800	8	16	40	80	160

TriPlus 500 – HS Parameters

Incubation Temperature (°C):	80
Incubation Time (min):	60
Shaking:	Fast
Pressurization Mode	Pressure
Vial Pressure (kPa)	130
Pressure Equilibration Time (min)	1
Loop/sample Path Temperature	80
Loop Filling Mode (kPa)	72.4
Loop Equilibration Time (min)	1
Needle Purge Flow	2
Injection Time (min)	1
Injection Mode	Standard

Trace 1310 GC Parameters

Inlet module and mode:	SSL, split
Split Flow (mL/min):	40
Purge Flow (mL/min):	5
Carrier Gas (kPa):	N ₂ , 2ml/min
Oven Temperature Program	
Temperature (°C):	
<RS in water>	40 °C hold 8min, 20°C/min to 200 °C, hold 4min
Temperature (°C):	
<RS in DMF>	40 °C hold 5min, 20°C/min to 120 °C, hold 4min, 20°C/min to 200 °C, hold 3min

FID

Temperature (°C):	250
Air Flow (mL/min)	350
H2 (mL/min)	35
N2 (mL/min)	40

结果与讨论

采用上述仪器方法对标准品level 1-level 5依次进样分析，考察各组分在相应浓度范围内的线性，稳定性及加标回收。具体谱图与数据汇总如下：

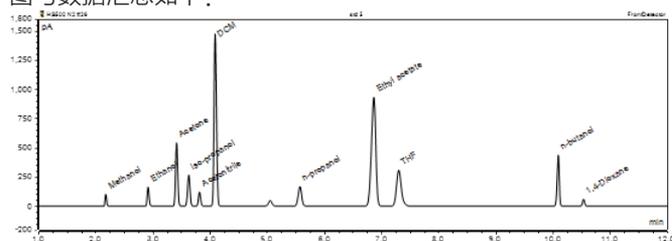


图1. 水中溶剂残留Level5标准溶液色谱图

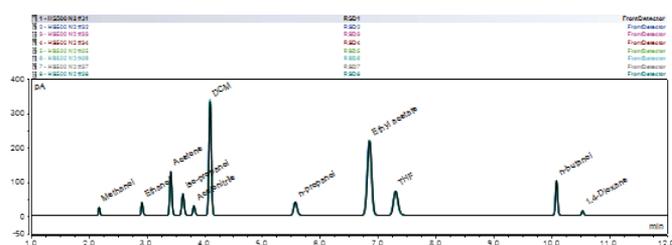
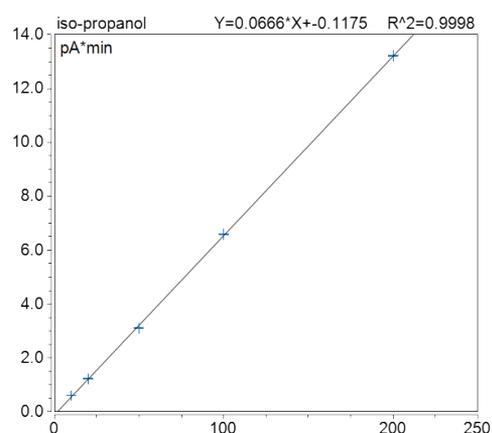
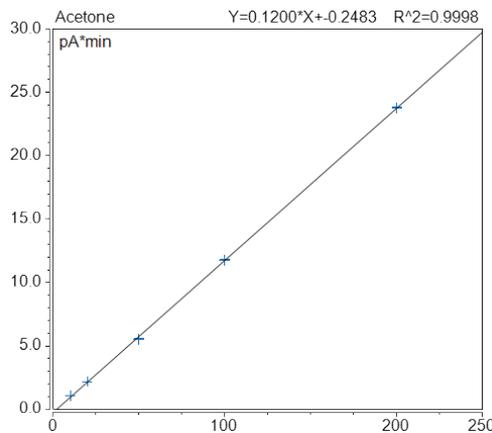
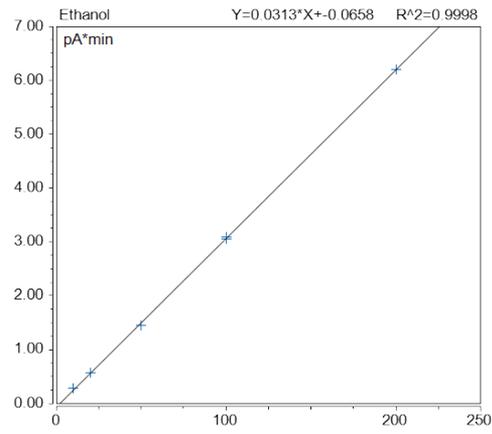
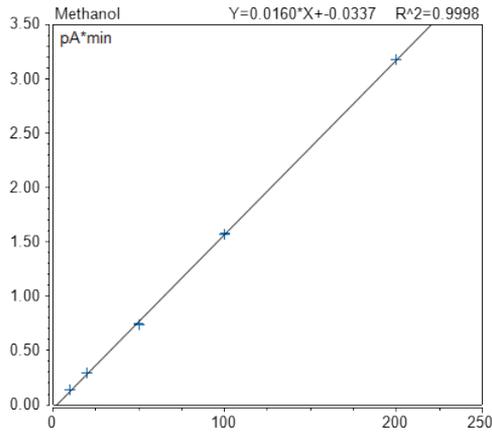


图2. 水中溶剂残留连续进样色谱图叠加

表4.水中溶剂残留实验结果及药典验证指标

序号No.	化合物 Peak Name	药典限 值Limit (ppm)	保留时间 Ret.Time	峰面积 Peak Area	拖尾因子 Asym.	分离度 Resol.	塔板数 Plates	线性范 围(ppm) Range of linearity	R2/%	LOD (SN=3)	LOQ (SN=10)	RSD
1	Methanol	3000	2.170	0.7445	1.22	13.23	27646	15-300	0.9998	0.26	0.85	0.23%
2	Ethanol	5000	2.908	1.4522	1.23	7.73	37931	15-300	0.9998	0.16	0.52	0.31%
3	Acetone	5000	3.405	5.5589	1.11	2.86	38782	15-300	0.9998	0.04	0.15	0.20%
4	iso-propa- nol	5000	3.615	3.1133	1.08	2.57	34391	15-300	0.9998	0.09	0.31	0.27%
5	Acetoni- trile	410	3.805	1.2662	1.17	3.79	47064	8-160	0.9999	0.10	0.35	0.31%
6	DCM	600	4.085	15.7012	1.04	15.55	44033	10-200	0.9992	0.01	0.05	1.61%
7	n-propa- nol	5000	5.555	2.7916	1.09	10.2	39547	15-300	0.9998	0.19	0.63	0.34%
8	Ethyl acetate	5000	6.833	19.0792	1.00	3.14	38387	15-300	0.9997	0.06	0.22	0.32%
9	THF	720	7.285	6.6885	1.12	25.78	38379	8-160	0.9993	0.11	0.35	0.43%
10	n-butanol	5000	10.078	4.4079	1.00	6.59	345560	15-300	0.9998	0.07	0.25	0.32%
11	1,4-Diox- ane	5000	10.530	0.5975	1.04	n.a.	374248	10-200	0.9998	0.23	0.76	0.26%

注：分离度为n.a.表示该峰后面没有其他峰；RSD为连续进样8针Level3标准品结果。根据药典要求，分离度指标为1.5，塔板数指标为5000，峰面积RSD指标为10%



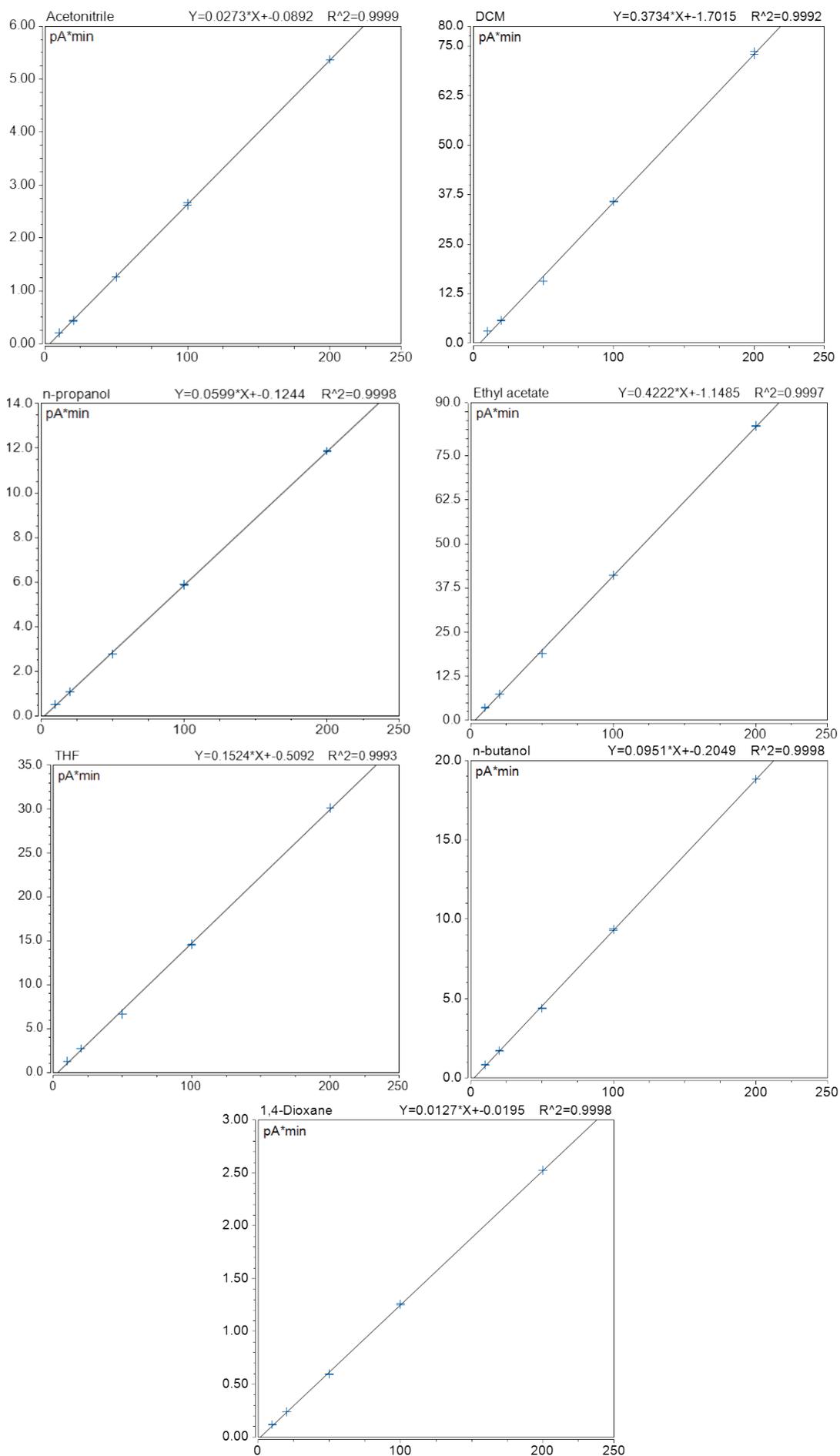


图3. 水中11种溶剂残留标准曲线图

实验结果表明水中11种组分分离度和峰型良好（见表4，图1），在标准品范围内线性相关系数均大于0.999（见表4，图3）。对level 3标准溶液连续进样8针，RSD分别为0.20-1.61%之间，重复性良好（表4，见图2）。以三倍信噪比（S/N=3）计算各化合物的检出限，各组分仪器检出限在0.01-0.85 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间（见表4）。

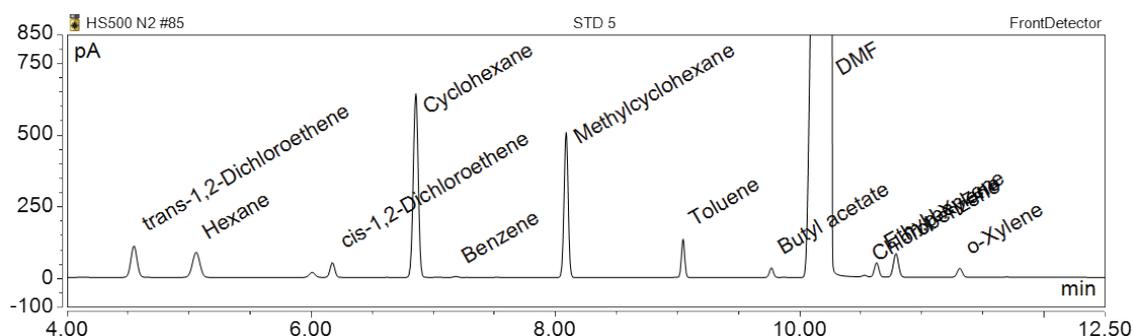


图4. DMF中溶剂残留Level5标准溶液色谱图

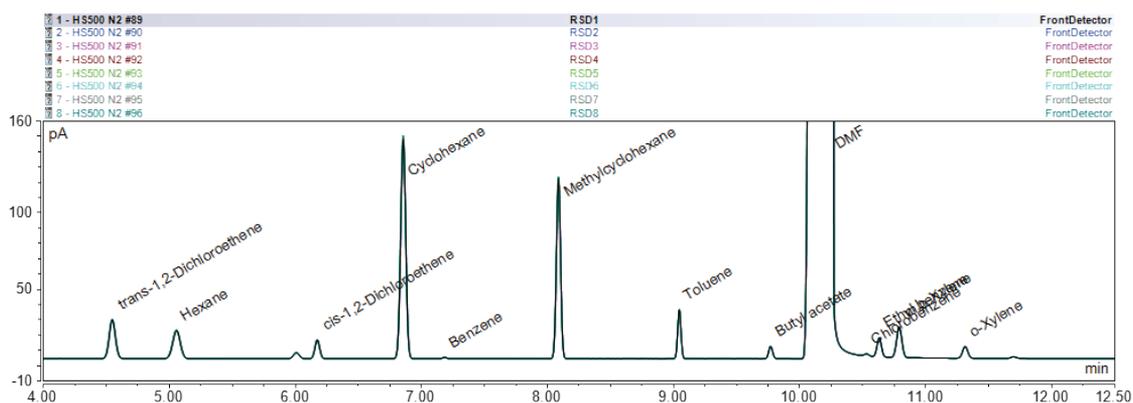
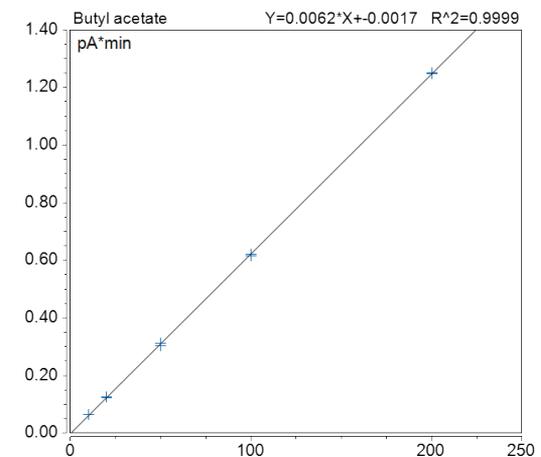
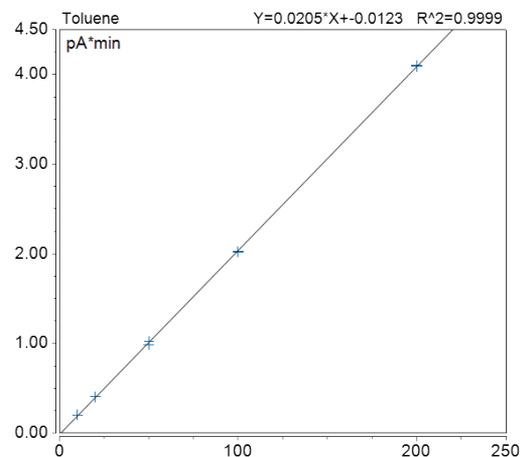
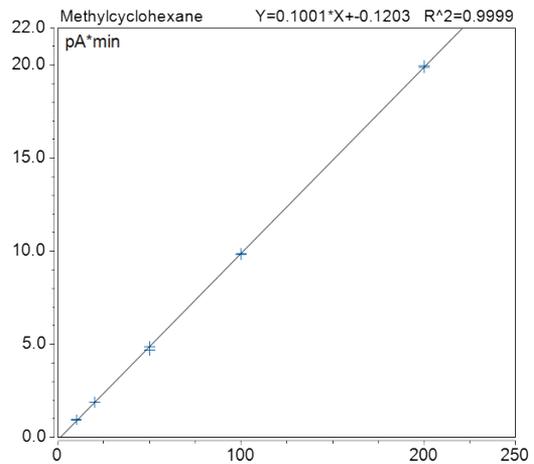
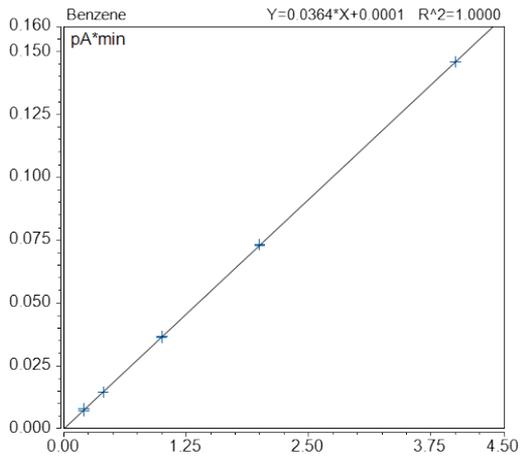
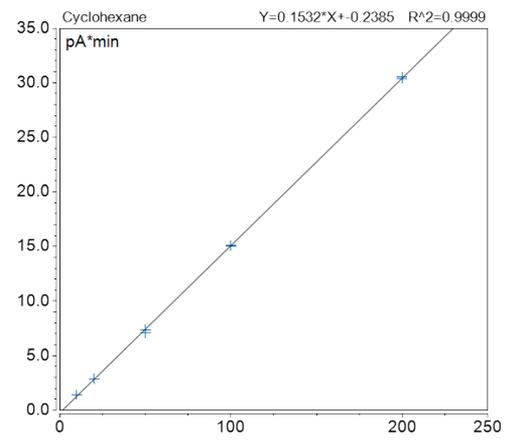
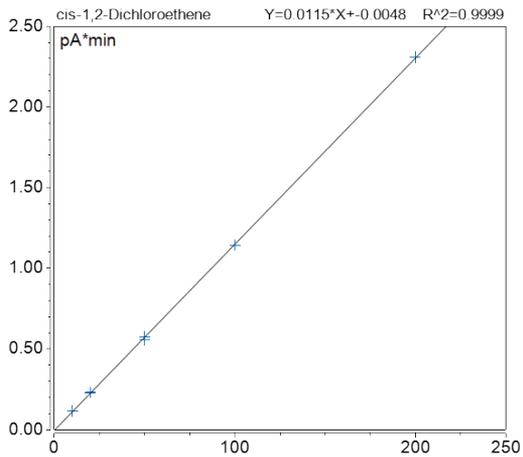
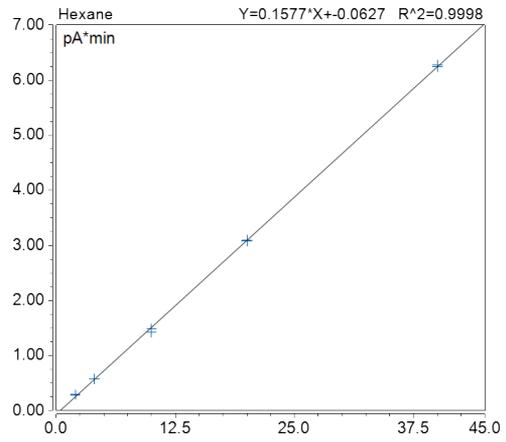
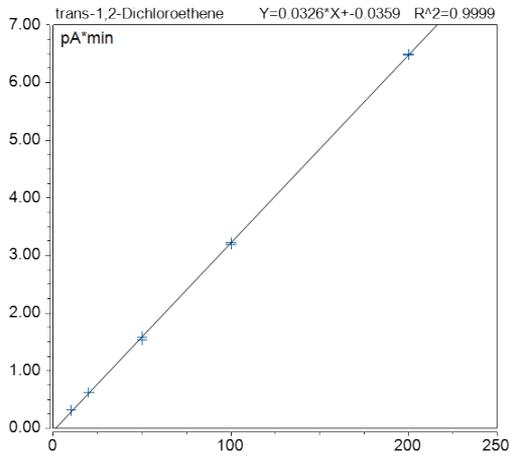


图5. DMF中溶剂残留连续进样色谱图叠加

表5. DMF中溶剂残留实验结果及药典验证指标

序号 No.	化合物Peak Name	药典限值Limit (ppm)	保留时间 Ret.Time	峰面积 Peak Area	拖尾因子 Asym.	分离度 Resol.	塔板数 Plates	线性范围 (ppm) Range of linearity	R2/%	LOD (SN=3)	LOQ (SN=10)	RSD
1	trans-1,2-Dichloroethene	1870	4.548	1.4969	1.02	4.9	37858	12-240	0.9999	0.05	0.15	0.46%
2	Hexane	290	5.057	1.3166	1.01	9.39	31265	1.2-24	0.9998	0.01	0.02	1.09%
3	cis-1,2-Dichloroethene	1870	6.173	0.5558	1.02	9.2	116682	6-120	0.9999	0.05	0.16	0.36%
4	Cyclohexane	3880	6.855	6.8188	1.00	2.45	129007	8-160	0.9999	0.01	0.02	0.69%
5	Benzene	2	7.185	0.0361	0.97	5.7	208131	0.16-3.2	1.0000	0.02	0.06	1.74%
6	Methylcyclohexane	1180	8.087	4.5977	1.00	17.39	275959	8-160	0.9999	0.01	0.02	0.52%
7	Toluene	890	9.045	0.9926	1.02	13.46	546322	8-160	0.9999	0.03	0.08	0.50%
8	Butyl acetate	5000	9.768	0.3056	1.03	4.02	440805	8-160	0.9999	0.10	0.33	0.74%
9	Chlorobenzene	360	10.53	0.0535	1.00	1.53	419255	2-40	0.9999	0.15	0.51	0.90%
10	Ethyl benzene	2170	10.63	0.5181	1.02	2.2	409922	8-160	0.9999	0.07	0.22	0.74%
11,12	m,p-Xylene	4340	10.79	0.9984	0.99	6.64	297253	16-320	0.9999	0.08	0.27	0.81%
13	o-Xylene	2170	11.312	0.3885	1.02	4.69	333762	8-160	0.9999	0.10	0.35	0.89%

注：分离度为n.a.表示该峰后面没有其他峰；RSD为连续进样8针Level3标准品结果。根据药典要求，分离度指标为1.5，塔板数指标为5000，峰面积RSD指标为10%



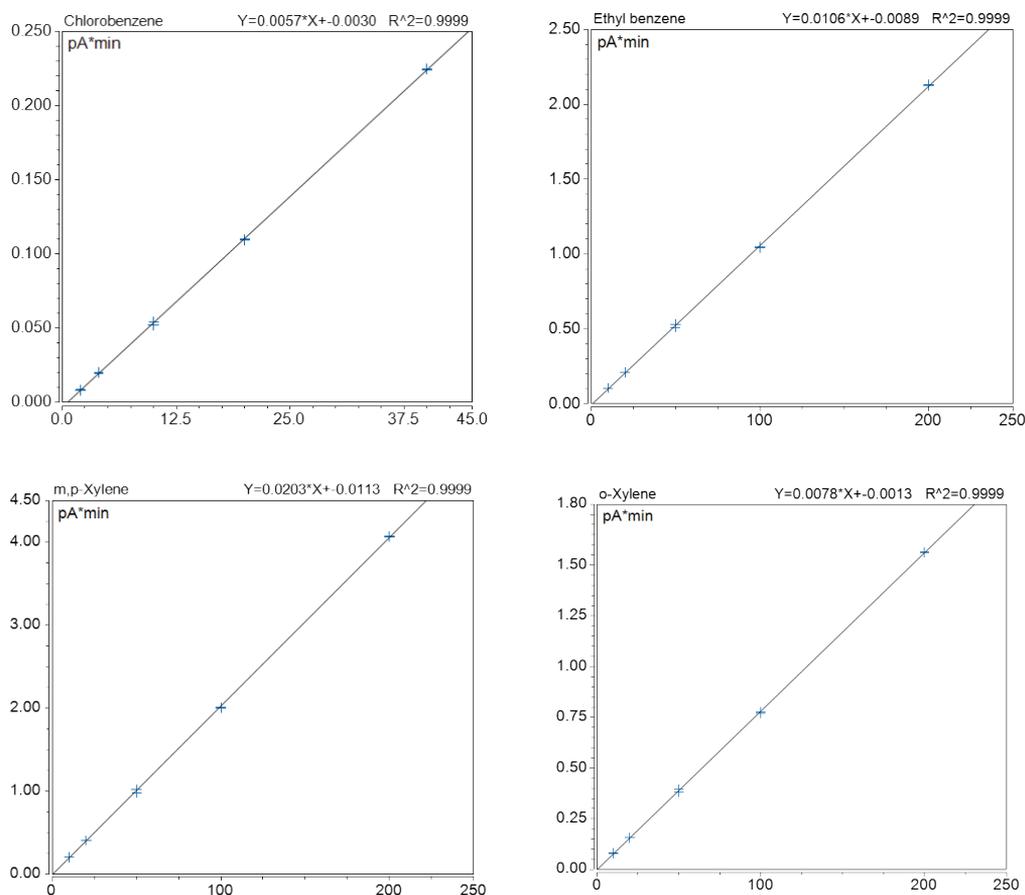


图6. DMF中13种溶剂残留标准曲线图

由图4, 5, 6及表5 可以看出, DMF溶剂中13种组分分离度和峰型良好, 线性相关系数均大于0.9998。对level 3标准溶液连续进样8针, RSD分别为0.36-1.74%之间, 重复性良好。以三倍信噪比 ($S/N=3$) 计算各化合物的检出限, 各组份仪器检出限在0.01-0.15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间。

结论

以上测试结果证明, 采用赛默飞世尔TRACE 1310气相色谱仪, 结合全新的TriPlus 500顶空自动进样器, 在医药溶剂残留测试中给出了出色的表现, 完全符合并超出中国药典的测试需求。

- 创新的气动控制系统和样品流路的超惰性设计确保了分析结果的重复性及精确度。这一点通过极好的进样峰面积重复性0.20-1.74% (连续8针进样, 平均0.61%) 得到了验证
 - 高灵敏的FID检测器与TraceGOLD TG-624色谱柱并用, 将所有化合物得到了完美的分离 ($R_s > 1.5$)
 - 出色的线性结果 (所有化合物 $R^2 > 0.9992$) 为药物的溶剂残留日常定量分析, 提供了准确度保证
 - 从仪器控制到报告输出, 均采用变色龙CDS软件。保证数据完整性、可溯性, 以及有效地数据管理
- 所有的数据结果均可表明TriPlus 500顶空自动进样器可以提供无与伦比的性能, 继而为实验室的日常分析提供可靠、稳定的结果。



赛默飞
官方微信

热线 800 810 5118
电话 400 650 5118
www.thermofisher.com

ThermoFisher
SCIENTIFIC