

## UPC<sup>2</sup>在萃取物分析中的应用

Baiba Čabovska, Michael D. Jones, 和 Andrew Aubin  
沃特世公司 (美国马萨诸塞州米尔福德)

### 应用效益

- UPC<sup>2</sup>™为难挥发和半挥发萃取物以及极性和非极性化合物的分析提供了一种新的技术。
- 为萃取物和浸出物研究提供了一种“一条龙式”单仪器方法。
- 可快速应用于制药、食品和临床等包装容器产品的分析。

### 沃特世提供的解决方案

ACQUITY UPC<sup>2</sup>™系统

ACQUITY® SQD质谱仪

Empower™ 3软件

UPC<sup>2</sup>色谱柱

### 关键词

UPC<sup>2</sup>、SFC、萃取物、  
聚合物添加剂、超高效合相色谱

### 简介

对于严格法规遵从性的制药和食品工业，包装材料中的可萃取物是其容器制造商和供应商的关注问题之一<sup>1-3</sup>。由于这些法规的要求，包装材料制造商积极控制和监测他们的产品，确保其可萃取物和可浸出物质不会导致风险。类似地，如塑料容器和过滤器等工业加工制造商被要求证明他们的产品在生产过程中未添加任何可浸出物。

因此一开始就要进行受控萃取研究，对来自关键容器密闭系统部件的可萃取物特性进行定性和定量研究。该研究在设备和包装开发初期阶段进行，测试采用溶剂萃取技术，包括一系列极性、溶剂相容性研究和多种分析技术。这些研究遇到的瓶颈之一是溶剂萃取物和合适分析技术之间的匹配问题，例如非极性溶剂萃取物可被直接注入气相色谱 (GC) 分析；而液相色谱 (LC) 分析时，则必须将其蒸干并复溶到与之兼容的溶剂中才行。同样，水提物必须反萃至非极性溶液中，才能用GC进行分析。超高效合相色谱 (UPC<sup>2</sup>) 是基于超临界流体色谱 (SFC) 原理的分析系统，可直接进样分析不同溶剂类型的萃取物，因此可节省时间和减少样品制备。

在本应用纪要中，对四种不同的包装材料进行了萃取，包括高密度聚丙烯药瓶 (HDPE)、低密度聚丙烯瓶 (LDPE)、乙烯-醋酸乙烯酯塑料袋 (EVA) 和聚氯乙烯透明材料 (PVC)。对萃取物中的14种常用聚合物添加剂进行筛选，以正己烷、异丙醇 (IPA) 和水作为萃取溶剂，使用GC-MS分析正己烷和IPA萃取物，使用ACQUITY UPLC®装置分析水和IPA萃取物，使用ACQUITY UPC<sup>2</sup>装置分析所有三种溶剂萃取物，并将UPC<sup>2</sup>分析结果与GC和UPLC分析结果进行对比。

## 试验

### 样品描述

采用微波萃取制备样品，用10mL异丙醇或正己烷在50℃下分别萃取HDPE、LDPE、EVA和PVC(2克)3个小时；将2克样品溶解于装有10mL水的顶空三角瓶中制备水萃取物，然后使用传统烘箱将样品在50℃下处理72小时。

### GC-MS实验条件

色谱柱: HP-5MS  
30 m x 0.32 mm, 1.0 μm膜  
载气: 2 mL/min 氦气  
升温程序: 35 °C保持5 min,  
以20 °C/min升温至320 °C,  
保持20.75 min  
进样口温度: 300 °C  
进样类型: 不分流进样1 μL  
洗吹1 min  
尾吹气: 400 mL/min 氮气  
传输线温度: 350 °C  
扫描范围: 100 ~ 1,500 m/z  
运行时间: 40 min  
数据管理: MassLynx™ v4.1软件

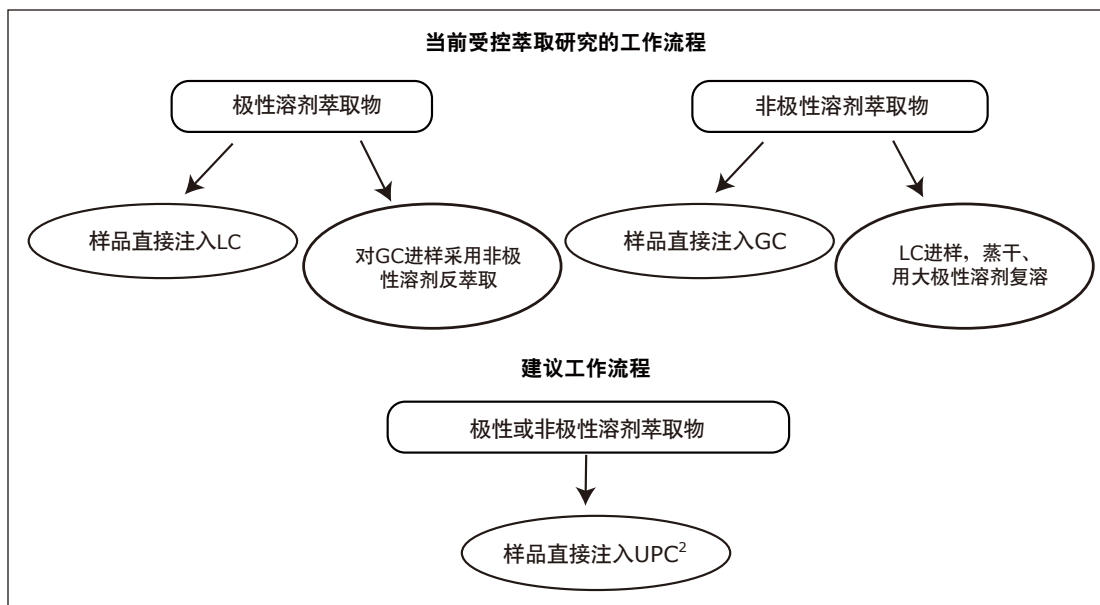
### UPC<sup>2</sup>实验条件

系统: ACQUITY UPC<sup>2</sup>  
检测器: 光电二极管阵列 (PDA)  
检测器和SQD质谱仪  
色谱柱: ACQUITY UPC<sup>2</sup> BEH 2-EP  
3.0 x 100 mm、1.7 μm  
流动相A: CO<sub>2</sub>  
流动相B: 1:1 甲醇/乙腈  
流速: 2.0 mL/min

梯度: 1% B保持1 min, 2.5 min  
内升至20%B、保持30 s、  
重新平衡至1%  
柱温: 65 °C  
APBR: 1800 psi  
进样量: 1.0 μL  
运行时间: 5.1 min  
波长: 220 nm  
MS扫描范围: 200 ~ 1,200 m/z  
毛细管电压: 3 kV  
锥孔电压: 25 V  
MS补偿泵流速: 0.2mL/min, 甲醇(0.1%甲酸)  
数据管理: Empower 3软件

### UPLC实验条件

系统: ACQUITY UPLC  
色谱柱: ACQUITY UPLC BEH  
Phenyl 2.1 x 100 mm, 1.7 μm  
流动相A: 0.1%甲酸水溶液  
流动相B: 0.1%甲酸乙腈溶液  
流速: 0.9 mL/min  
梯度: 10min从50%B至90%,  
重新平衡至50%B  
柱温: 50 °C  
进样量: 2 μL  
运行时间: 12 min  
检测波长: 220 nm  
MS扫描范围: 200 ~ 1,500 m/z  
锥孔电压: 30 V  
毛细管电压: 3 kV  
数据管理: Empower 2软件



## 结果与讨论

该方法筛选的聚合物添加剂结构如图1所示，它们包括不同类别的添加剂，如塑化剂、抗氧化剂和UV-吸收剂。

如图2所示，对每种分析技术的标准物的分离结果进行对比，UPLC和UPC<sup>2</sup>适用于所选的所有14种化合物，但由于正交选择性的差别，两种方法的洗脱顺序不同。ACQUITY UPC<sup>2</sup>系统与ACQUITY UPLC系统相比，分析时间更短。此外，对于一些热不稳定的分析物，如Irganox 1010和Irganox 245等，使用GC-MS难以实现有效色谱分离。在GC-MS分析中，从Irgasfos 168至Uvitex OB的后洗脱峰均为宽峰，这可能与固定相的次级相互作用或柱上降解有关。该筛选所选择的化合物与液体色谱或合相色谱的相容性比与气相色谱的相容性更好。

用ACQUITY UPLC和ACQUITY UPC<sup>2</sup>系统分析水萃取物，没有出现任何谱峰(未显示数据)，此乃意料之中，因为水是环境中最常见的溶剂，生产商要避免他们的配方产品容易受到水溶性的影响。

在其它两种溶剂-正己烷和异丙醇的萃取物中，如图3所示，LDPE含有最多的可萃取物，用UPLC(未显示数据)分析异丙醇萃取物比用UPC<sup>2</sup>分析得到谱峰强度更弱；在进行UPLC分析前，先将正己烷萃取物干燥、用溶剂重新溶解，然后再用UPLC进行分析(数据未显示)。ACQUITY UPLC和ACQUITY UPC<sup>2</sup>系统检测都表明样品中含有相同系列的萃取化合物，

采用GC-MS分析基线噪音高，如图4所示，采用该技术时，必须检测已知聚合物的提取离子谱，因此难于筛选包装产品中的未知可萃取物，而样品预浓缩步骤可提高检测到的谱峰强度。

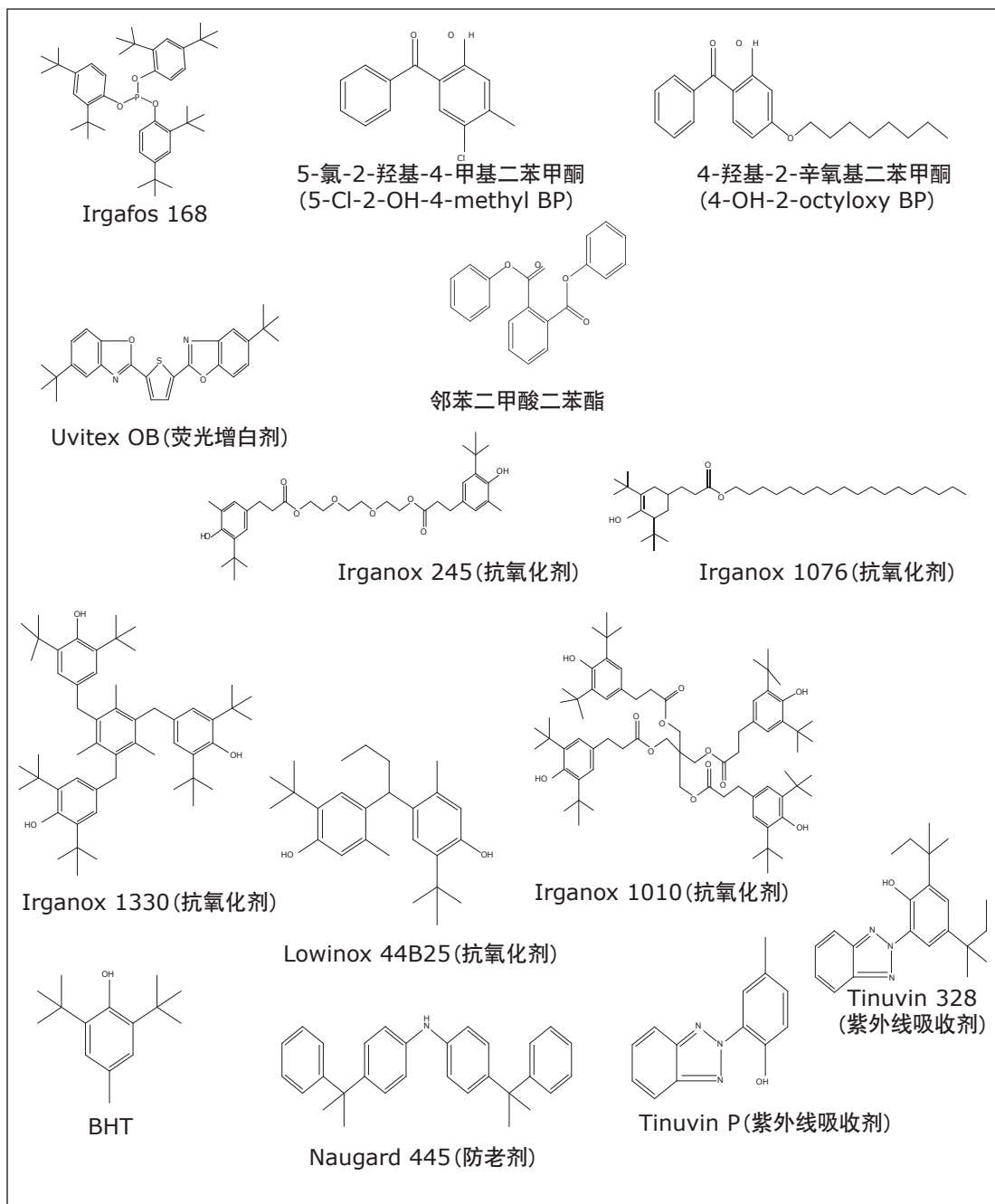


图1. 聚合物添加剂及其结构。

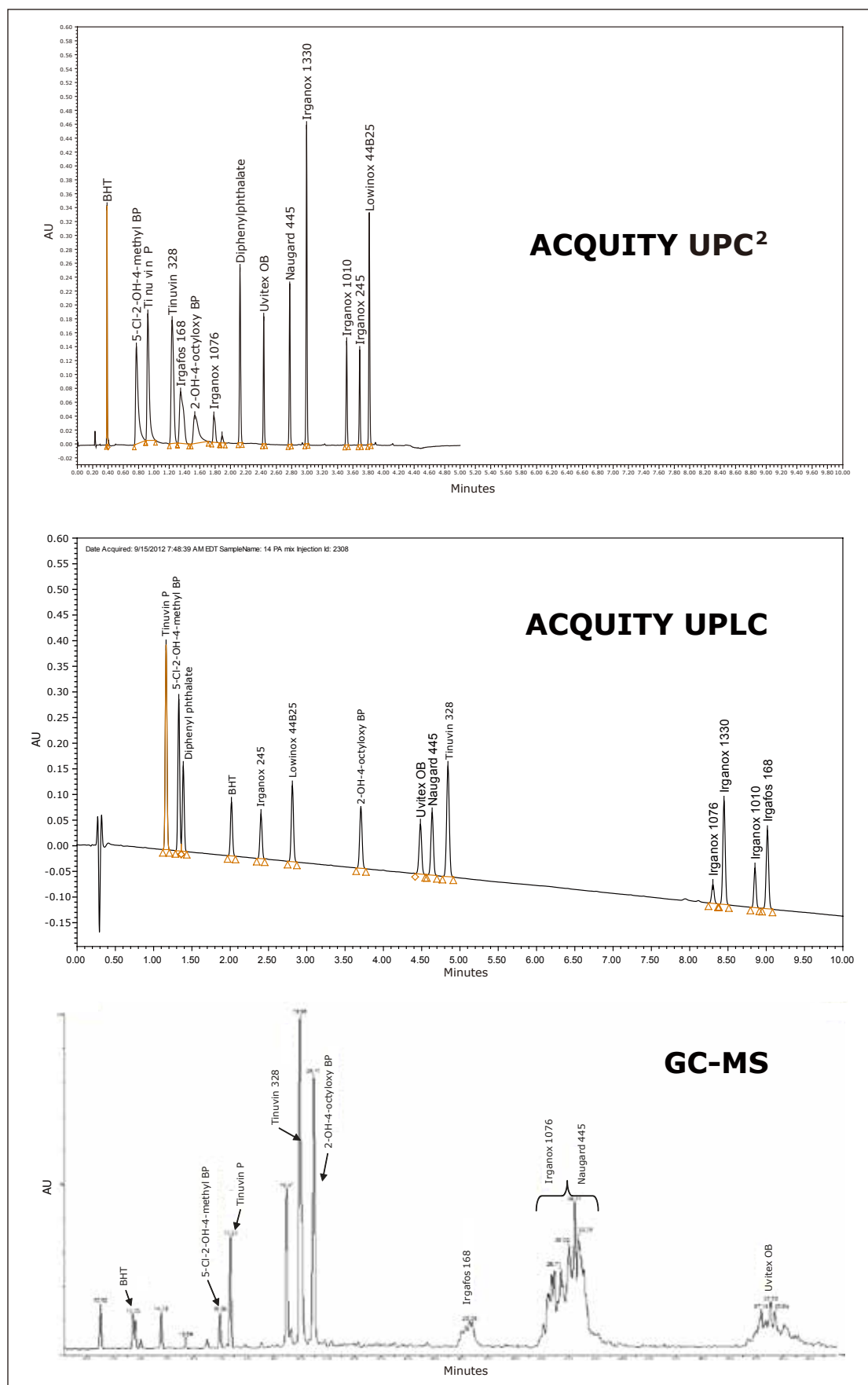


图2. 标准物分离色谱。

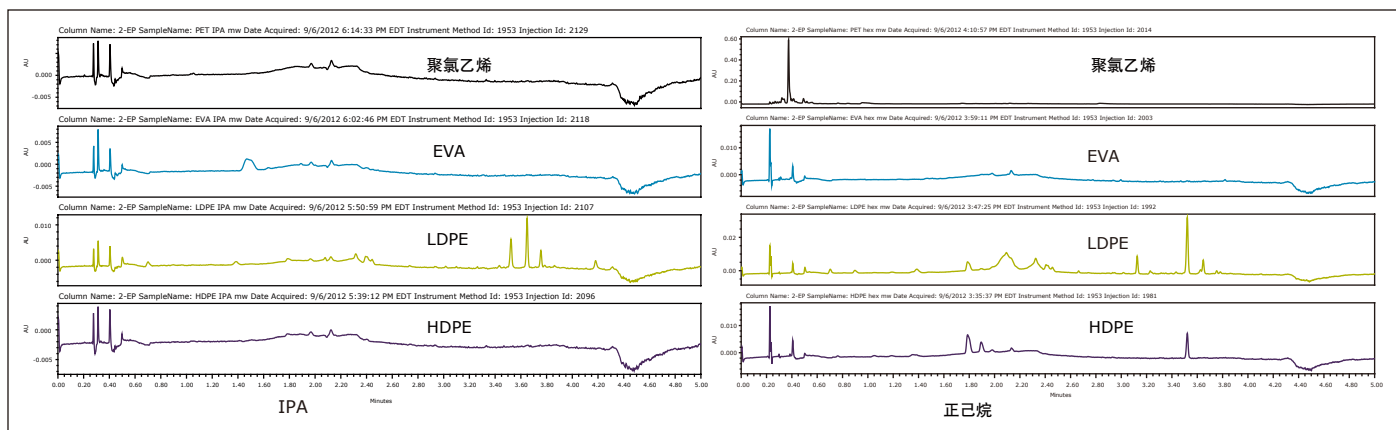


图3. IPA和正己烷萃取物样品的ACQUITY UPC<sup>2</sup>系统分析图谱。

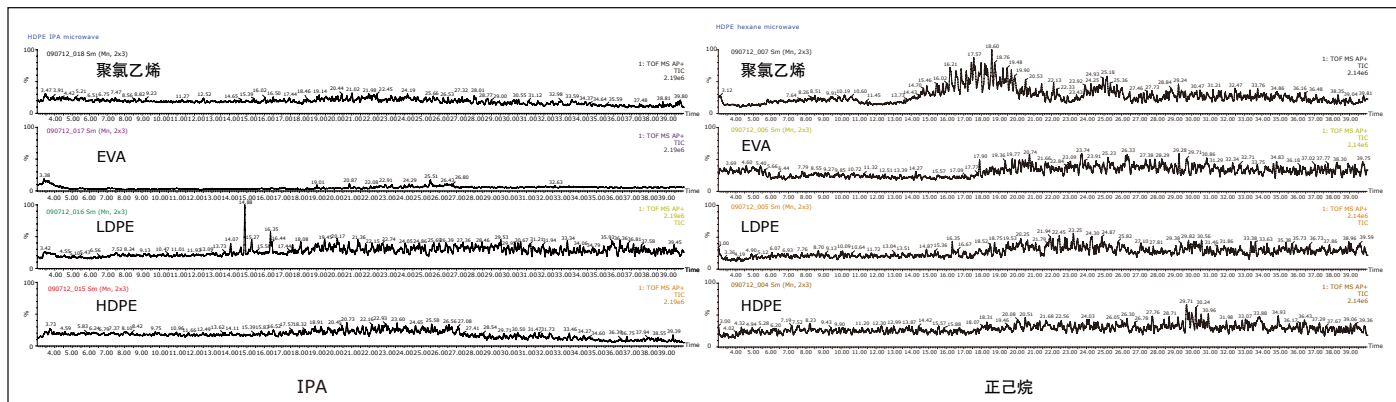


图4. IPA和正己烷萃取物的GC-MS分析图谱。

如图5所示，ACQUITY UPC<sup>2</sup>在LDPE样品中检测到三种已知聚合物添加剂，包括Irganox 1010、Irganox 1076和Irgafos 168，它们通常都用作提高聚合物稳定性的抗氧化剂。通过进样分析可靠标准物、对比保留时间和MS数据对每种萃取物进行了确认，如图6和图7所示的Irganox 1076的例子，在LDPE的正己烷或异丙醇萃取物中都发现了这三种添加剂。

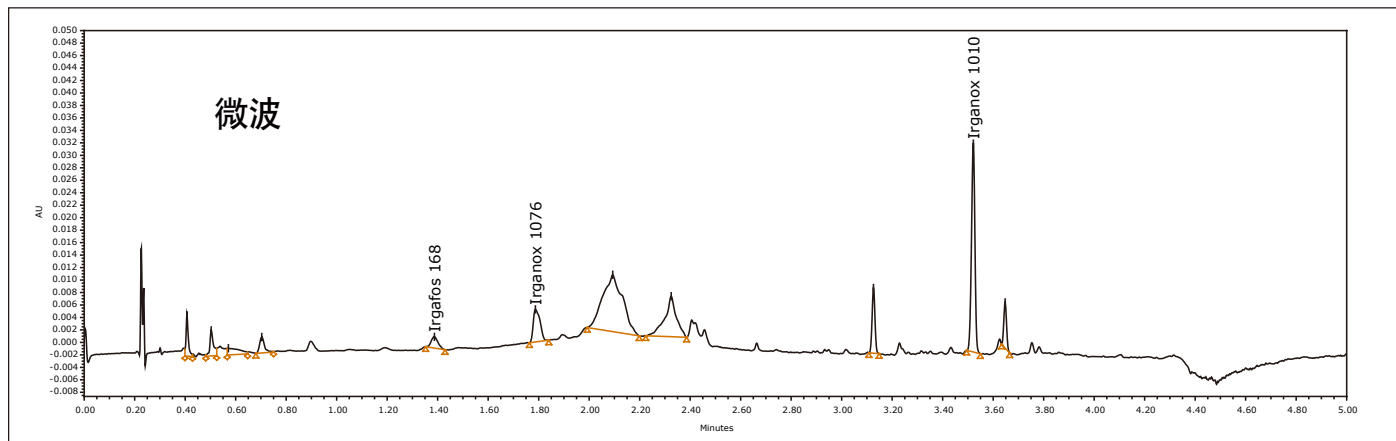


图5. 使用ACQUITY UPC<sup>2</sup>在LDPE正己烷萃取液中检测到的萃取物。

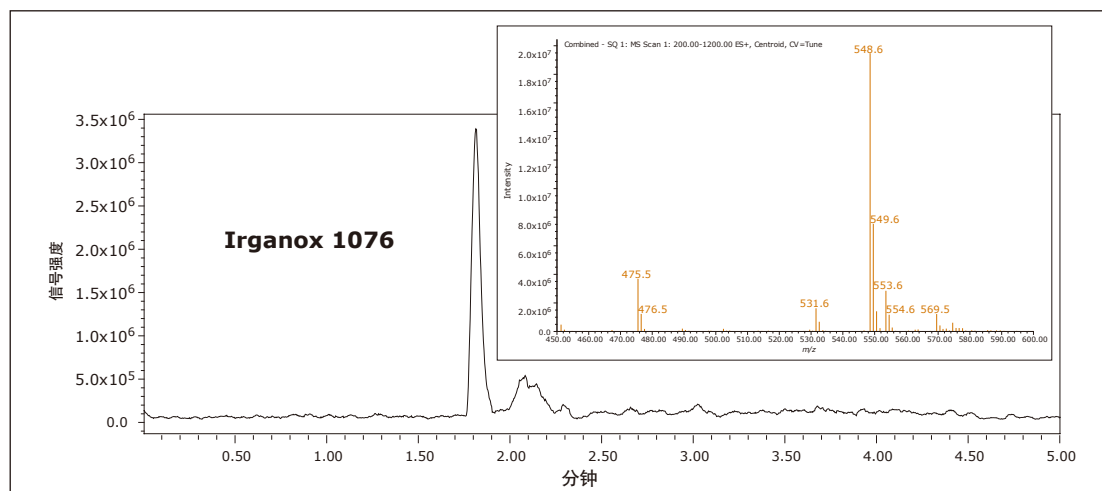


图6. 用UPC<sup>2</sup>检测到的LDPE正己烷萃取液中的Irganox 1076。

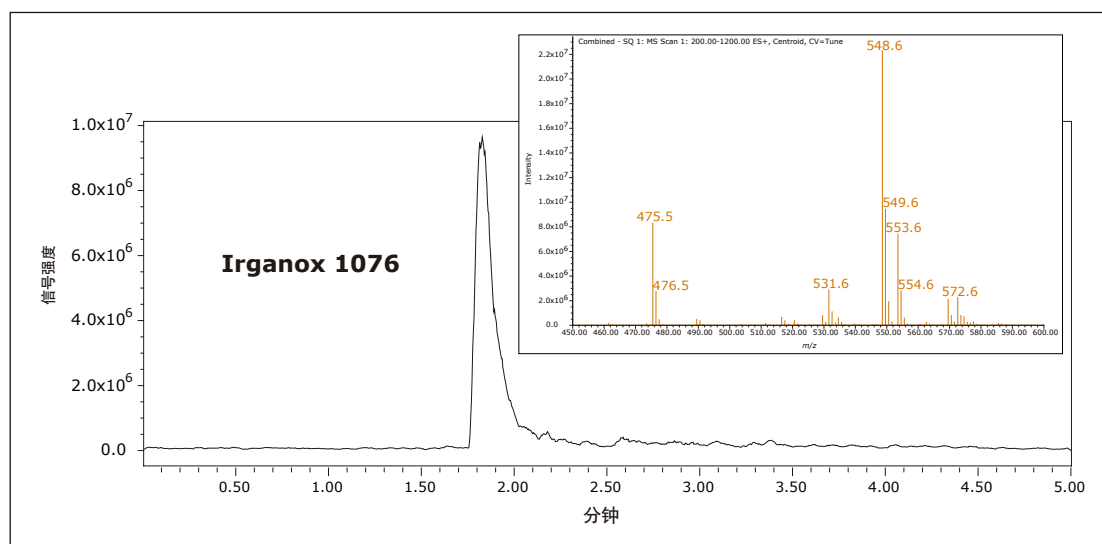


图7. 用UPC<sup>2</sup>检测到Irganox 1076标准物。

在GS-MS分析中，使用标准品保留时间和质谱图，同样确认有Irgafos 168和Irganox 1076存在。



## 结论

在该应用中，发现了一种可用于不同包装材料所有萃取物的单一技术-ACQUITY UPC<sup>2</sup>。由于所有的萃取溶剂可直接进样分析，因此该技术简化了样品制备的工作流程，如流水线般的操作，大大提高了仪器的使用率。而使用如LC和GC等其它分离技术，则有的萃取物不相容，需要更多分析前处理步骤。

由于分析温度更低，UPC<sup>2</sup>方法比GC方法能更好地检测到不挥发和热不稳定化合物相关信息，与UPLC相比，UPC<sup>2</sup>分析在运行时间方面提高了2倍，比GC提高了8倍。

易与MS检测器串联使用，可快速检测样品萃取物中的已知聚合物。

## 参考文献

1. Balogh MP. Testing the Critical Interface: Leachables and Extractables. *LCGC*. 2011 June.
2. Containers Closure Systems for Packaging Human Drugs and Biologics. Guidance for Industry; U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER) and Center for Biologics Evaluation and Research (CBER). 1999 May.
3. Norwood DL, Fenge Q. Strategies for the analysis of pharmaceutical excipients and their trace level impurities. *Am Pharm Rev*. 2004; 7(5): 92,94, 96-99.

# Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

Waters是沃特世公司的注册商标。ACQUITY UPC<sup>2</sup>、UltraPerformance Convergence Chromatography、UPC<sup>2</sup>、Empower和The Science of What's Possible是沃特世公司的商标。其他所有商标均归各自的拥有者所有。

©2012 年沃特世公司 中国印制  
2012 年 11 月 720004490ZH AG-PDF

沃特世科技(上海)有限公司

北京: 010 - 5209 3866  
上海: 021 - 6156 2666  
广州: 020 - 2829 6555  
成都: 028 - 6554 5999

沃特斯中国有限公司

香港: 852 - 2964 1800

免费售后服务热线: 800 (400) 820 2676  
[www.waters.com](http://www.waters.com)

