Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

利用Waters MV-10 ASFE和ACQUITY UPC²系统简化目前的萃取物分析方法

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

应用优势

- SFE比微波提取法更加灵活，与索氏提取法相比能够节省大量的溶剂和运行时间。
- UPC²®可通过简化工作流程改善萃取物的分析

沃特世解决方案

ACQUITY UPC²系统，配有PDA和SQD检测器

MV-10 ASFE™ 系统

Empower™ 3 软件

关键词

可提取物、SFE、UPC²、超临界流体、合相色谱

简介

制药和食品包装行业中的萃取物分析技术已非常完善[1-3]。分析工作流程会涉及多种技术，同样，对密封容器系统的评估也会包含多项提取技术。ACQUITY UPC²®系统可兼容各种提取过程中使用的常规溶剂，从而简化分析工作流程[4]。其中超临界流体在分析工作流程的改进中起着重要作用，那么："样品提取过程是否也能采用同一技术使其简化，即超临界流体提取法？"

在萃取物的分析过程中，可采用多种技术提取样品。具有代表性的方法包括索氏提取法、微波法或超临界流体萃取法(SFE)。提取溶剂涵盖的极性范围必须很宽，以确保非极性和极性分析物都能够从包装材料中被提取出来。索氏提取器价格相对便宜，因此极具吸引力。但若考虑到萃取溶剂及其废液处理的成本，微波法和SFE法因可减少溶剂消耗量和废液处理量而具有节约成本的优势，同时还可以缩短分析时间短。

在本应用中，我们对4种不同类型的包装材料进行了提取，包括：高密度聚丙烯药瓶(HDPE)、低密度聚丙烯瓶(LDPE)、聚乙烯乙酸乙烯酯血浆袋(EVA)和聚氯乙烯吸塑包装(PVC)。提取完成后，采用配有PDA和单四极杆(SQD)质谱检测器的超高效合相色谱(UltraPerformance Convergence™ Chromatography，UPC²)系统对所得提取液中的14种常见聚合物添加剂进行了快速筛查。分别使用微波提取法和索氏提取法制备异丙醇和己烷提取物，同时使用不同比例的异丙醇作为助溶剂进行SFE萃取。然后，对应用不同技术得到的提取物进行了比较。

实验

方法条件

UPC²条件

系统:	ACQUITY UPC², 配有PDA和SQD检测器
色谱柱:	ACQUITY UPC² BEH 2-EP 3.0 x 100 mm, 1.7 µm
改性剂:	1:1甲醇/乙腈
流速:	2 mL/min
梯度:	1%流动相B保持1 min, 然后在2.5 min内增加至20%, 保持30 s, 然后降回1% 并平衡系统
柱温:	65 °C
APBR:	1800 psi
进样体积:	1.0 µL
运行时间:	5.1 min
波长:	220 nm
MS扫描范围:	200-1200 m/z
毛细管电压:	3 kV
锥孔电压:	25 V
补偿泵液流速:	含0.1%甲酸的甲醇溶液, 0.2 mL/min
数据管理:	Empower 3软件

样品信息

微波提取法

取HDPE、LDPE、EVA和PVC样品2 g，切割成1x1 cm碎片，然后置于10 mL异丙醇或10 mL己烷中，在50 °C下提取3小时。

索氏提取法

将材料(PVC 3 g，HDPE、LDPE或EVA各 5 g)切成碎片(大约1x1 cm)置于Whatman 33 x 94 mm纤维提取滤筒中进行索氏提取。然后将提取滤筒放在传统索氏提取装置中，该装置包括冷凝管、索氏腔室和提取烧瓶。在索氏提取器中加入提取剂(己烷或异丙醇)约175 mL。所有样品在沸腾的混合溶剂中提取8 h。提取完成后，蒸发提取溶剂至提取物基本干燥，然后用15 mL己烷或异丙醇复溶。分析前，用0.45 µm玻璃注射器针头过滤器过滤提取物溶液，以除去所有颗粒物质。

SFE

采用Waters® MV-10 ASFE系统进行超临界流体萃取(SFE)。在各SFE实验中，将材料(PVC 2 g，HDPE、LDPE或EVA各3 g)切成碎片(大约1x1 cm)置于10 mL不锈钢萃取管中。利用上述每种材料制备出两种不同的提取物：第一种采用5.0 mL/min二氧化碳加入0.10 mL/min异丙醇助溶剂提取，第二种采用4.0 mL/min二氧化碳加入1.0 mL/min异丙醇助溶剂提取。所有提取操作均在50 °C和300 bar反压条件下进行，提取程序为：30 min动态，20 min静态，10 min动态，循环两次。异丙醇作为补偿溶剂，流速0.25 mL/min。提取完成后，对高比例异丙醇的萃取液收集后蒸发溶剂(助溶剂和补偿溶剂的混合溶液)至提取物基本干燥，然后用异丙醇(PVC中加入10 mL，HDPE、LDPE和EVA各加入9 mL)复溶。对于低比例异丙醇的萃取液收集后直接定容至相应体积。分析前，用0.45 µm玻璃注射器针头过滤器过滤提取物溶液，以除去所有颗粒物质。每个样品的总提取时间为2 h。

结果与讨论

比较不同提取方式的提取时间，采用索氏提取法提取一次样品的时间为8 h；微波法可同时提取16个样品，提取时间为3 h；采用SFE法每次提取耗时2 h，样品盘可容纳10个样品。即使同时使用多台索氏提取器，总提取时间仍明显长于微波法或SFE法所用时间。

就耗费溶剂而言，索氏提取法所需溶剂达175 mL，提取结束后需要蒸发溶剂，减少样品体积。微波提取法所用溶剂为10 mL，如果要提高检测灵敏度，则需将其蒸干。SFE法在样品预富集方面体现了极大的灵活性。在低比例异丙醇萃取条件下，最终的收集液大约为5 mL，然后定容到一定的体积，其浓度与微波法和索氏提取法所得的样品浓度相当。在高比例异丙醇萃取条件下，收集液总体积约30 mL，需将其蒸发才可获得目标浓度。

对微波法提取的样品进行分析后发现，从PVC和EVA样品中获得的提取物数目最少。以己烷或异丙醇为提取剂时从LDPE样品中获得的提取物最多，如图1所示。

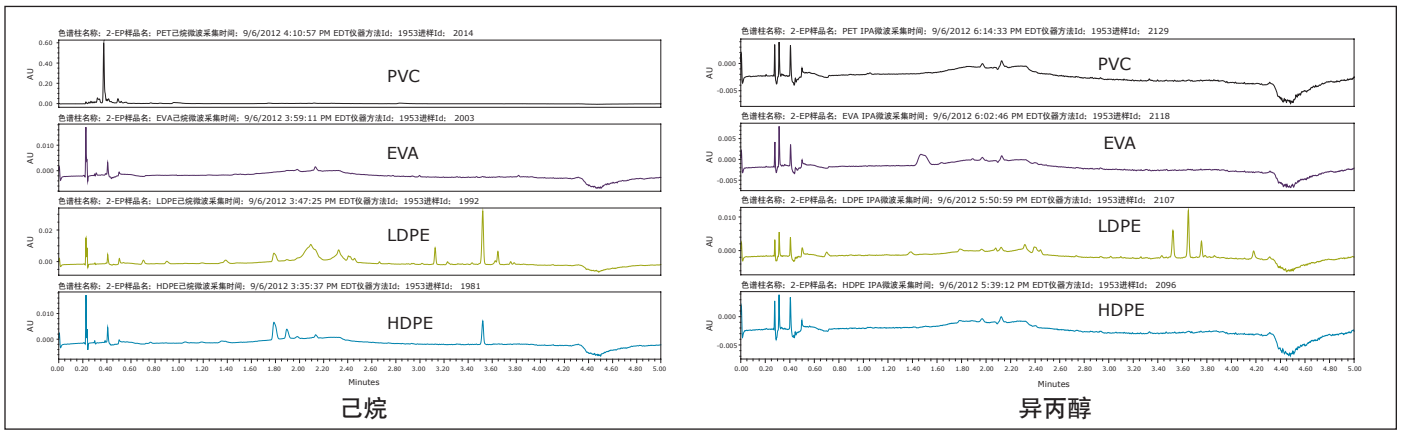

图1. 采用微波提取技术得到的己烷和异丙醇提取物色谱图。

采用索氏提取法所得的PVC色谱图中出现若干个额外峰，如图2所示，而这些峰在采用微波法提取的样品中并未出现。这种显著差异的存在可能是由于索氏提取法的提取时间更长、温度更高所致。

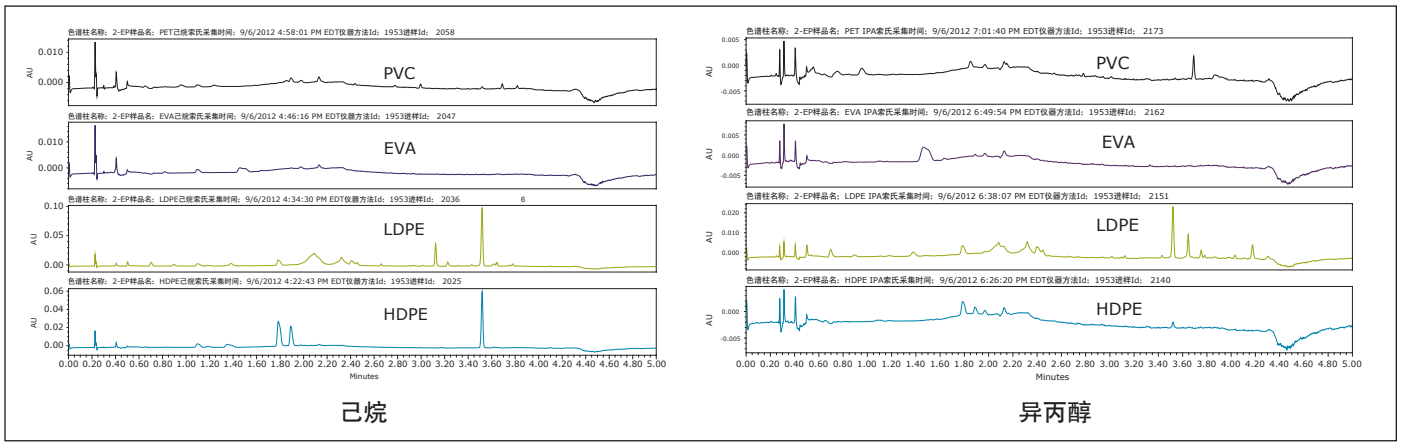

图2. 采用索氏提取方法得到的己烷和异丙醇提取物色谱图。

将SFE提取分析结果与其他两种技术的结果进行直观比较可发现，SFE提取法得到的分析物含量与索氏提取法相近，针对PVC的提取量高于微波提取法，如图3所示。在异丙醇LDPE的提取试验中，高比例异丙醇提取所得的提取量高于低比例异丙醇的提取量。此结果证明了SFE法的灵活性，它能够轻松调节并确定各种塑料所需助溶剂的最佳比例，成功实现对可提取物的分析。

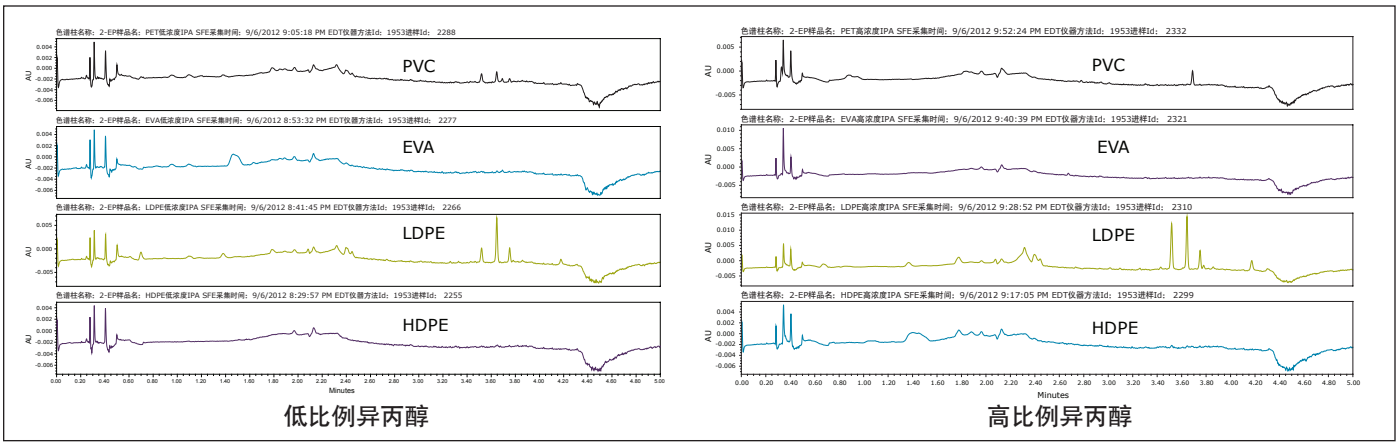

图3. 低比例和高比例异丙醇助溶剂条件下的SFE提取物色谱图。

以异丙醇为溶剂时，所有提取技术对LDPE样品提取所得的色谱图相似，如图4所示。微波法和索氏提取法可通过延长提取时间和提高温度来增加提取物浓度，而SPE法则可通过提高异丙醇比例来实现。本文未在SFE法中采用己烷进行提取，因为CO_2是一种与己烷化学性质相似的非极性溶剂；因此分析结果会很相似。

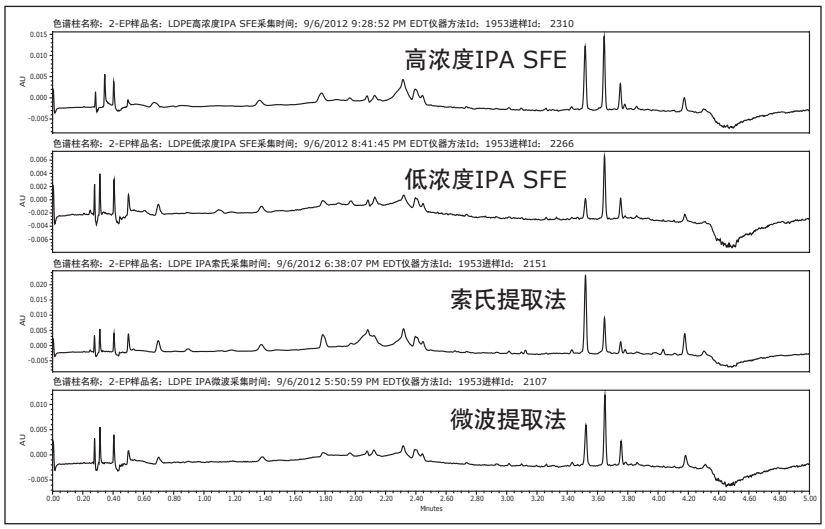

图4. LDPE的IPA提取物色谱图。

LDPE己烷提取物中的已鉴定化合物示例，如图5所示。

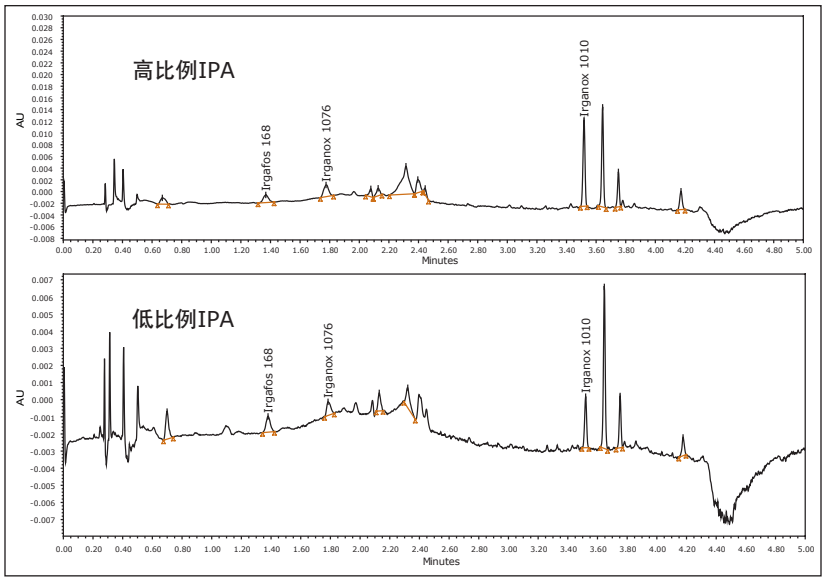

图5. 采用SFE提取法所得的LDPE提取物成分鉴定。

总的来说，所有技术在提取的化合物类型方面效果相当。但可以确定的是，当时间和资源条件都非常苛刻时，SFE法相比其它提取技术更具优势。MV-10 ASFE系统由软件控制，可实现方法开发自动化。可使用的助溶剂多达四种，并可在方法中进行设置不同的助溶剂比例和提取时间。采用索氏提取法和微波提取法时，在方法开发的每个步骤中均需要手动更换溶剂，这在基于“质量源于设计”(QbD)理念的研究中会非常耗时。

结论

与索氏提取法相比，SFE法可节省80%-97%的溶剂消耗，以及75%的提取时间。通过控制SFE系统的软件能够自动完成方法的开发，以确定最佳的助溶剂种类和比例。此外，与微波提取法相比，SFE在样品预富集方面更具灵活性。

参考文献

1. 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); Rockville, MD. 1999 May.
2. 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.
3. Ariasa M, Penichet I, Ysambertt F, Bauza R, Zougaghc M, Ríos Á. Fast supercritical fluid extraction of low- and high-density polyethylene additives: Comparison with conventional reflux and automatic Soxhlet extraction. *J Supercritical Fluids.* 2009; 50: 22-28.
4. Cabovska B, Jones MD, Aubin A. Application of UPC^2 in extractables analysis. Waters Application Note 720004490en. 2012 November.

扫一扫，关注沃特世微信

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Waters和The Science of What's Possible是沃特世公司的注册商标。ACQUITY UPC^2, UPC^2, UltraPerformance Convergence, Empower和MV-10 ASFE是沃特世公司的商标。其它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 720004509ZH AG-PDF

沃特斯中国有限公司
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 5999
成都：028 - 6578 4990
香港：852 - 2964 1800

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