

Application News

No. L453

高效液相色谱
High Performance Liquid Chromatography

使用配置高灵敏度检测池的光电二极管阵列检测器 SPD-M30A 进行杂质分析

Impurity Analysis Using the SPD-M30A Photodiode Array Detector with the High Sensitivity Cell

在进行医药品的杂质分析时，除了检测高浓度的主要成分以外，还需要检测医药品中存在的微量杂质。因此要求检测器必须具备宽线性范围。

对微量杂质进行高精度定量分析，需要使用高 S/N（信噪比）。通常，通过增加样品浓度与进样量提高 S/N。但是，增加样品浓度后，主要成分的溶解度可能发生改变，或经加热溶解而分解成分；增加进样量后，因样品溶剂的影响，峰可能变形。因此，为了通过适当的样品浓度和进样量来检测微量杂质，检测器必须具备高灵敏度。

本文为您介绍使用新型光电二极管阵列检测器 SPD-M30A 和选配件高灵敏度检测池（光程长为 85 mm）进行杂质分析，并测定其灵敏度和线性的示例。

■ 灵敏度 Sensitivity

本次分析使用非甾体抗炎药酮洛芬作为样品，在新型光电二极管阵列检测器 SPD-M30A 中配置了光程长为 85 mm 的高灵敏度检测池，使以往难以实现的微量杂质测定成为可能。

为了与旧机型 SPD-M20A（半微量检测池）进行比较，在相同条件下，注入 2 μ L 的酮洛芬 0.02 mg/L 标准溶液，并分别确认 S/N。在图 1 中显示分析结果，在表 1 中显示分析条件。由此可知，由 SPD-M30A 测定获取的 S/N 为 SPD-M20A 的 10 倍以上，由此进行定量分析。

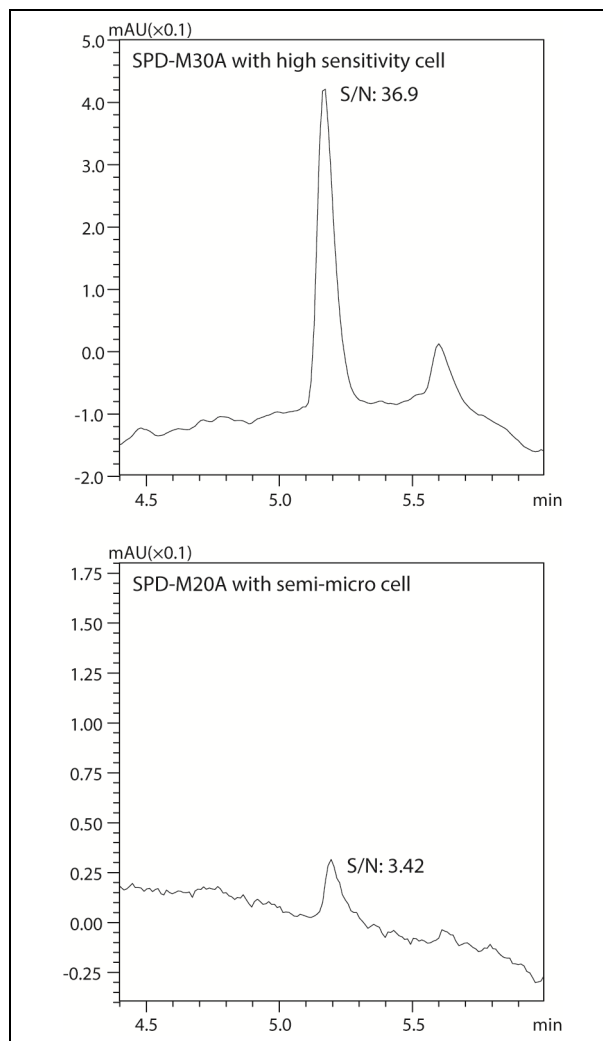


图 1 酮洛芬 0.02 mg/L 标准溶液的色谱图
Chromatograms of 0.02 mg/L Ketoprofen Standard Solution

表 1 分析条件
Analytical Conditions

System	: Nexera SR	[Autosampler rinse settings]
Column	: Shim-pack XR-ODS III (150 mm L. \times 2.0 mm I.D., 2.2 μ m)	Rinse Solution : R0 : Water/Methanol=50/50 R1 : Acetonitrile R2 : Acetonitrile R3 : Acetonitrile
Mobile Phase	: A : 0.1 % Formic acid in water B : Acetonitrile	Rinse Mode : Before and after aspiration
Time Program	: B.Conc. 30 % (0 min) \rightarrow 70 % (10 min)	Rinse Method : Rinse port \rightarrow Rinse pump
Column Temp.	: 40 $^{\circ}$ C	External Rinse : R0 0 sec, R3 2 sec
Flowrate	: 0.5 mL/min	Internal Rinse : R0 \rightarrow R1, rinsing volume 300 μ L each
Injection Vol.	: 2 μ L	Injection Port Rinse : R0, R1
Detection	: SPD-M30A at 254 nm	
Flow Cell	: High sensitivity cell (SPD-M30A)	

■ 线性

Linearity

使用配置高灵敏度检测池的 SPD-M30A 计算酮洛芬的线性时，需要制备 0.01~500 mg/L 的标准溶液进行测定。图 2 为浓度范围在 0.01~50 mg/L 的标准曲线。由图可知，相关系数(R^2)超过 0.999，表示线性良好。图 3 为浓度范围在 0.01~500 mg/L 的标准曲线。因为超过 50 mg/L 将无法保持线性，所以启用 Application News No. L451 中介绍的“动态范围扩展”功能“i-DReC”，扩大了标准曲线范围。此时的相关系数(R^2)超过 0.999，每个校准点的误差都小于 5%。

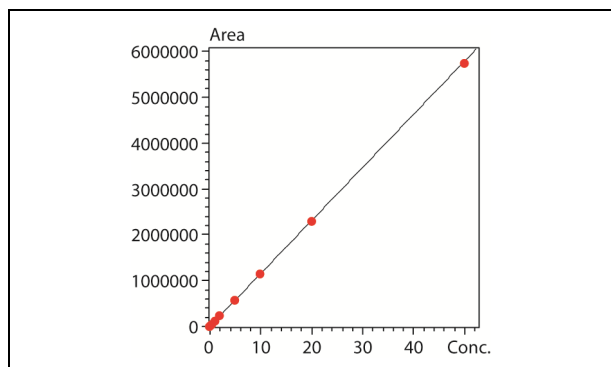


图 2 酮洛芬的标准曲线 (0.01~50 mg/L)
Linearity of Ketoprofen (0.01-50 mg/L)

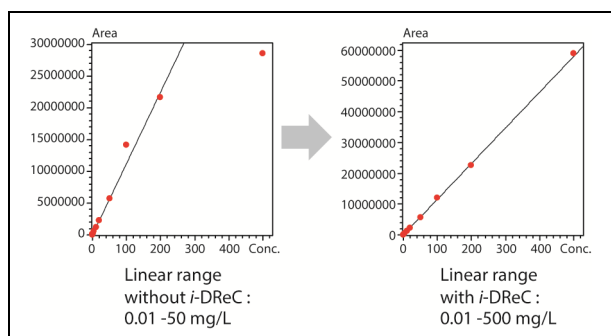


图 3 通过 i-DReC 校正标准曲线 (0.01~500 mg/L)
Linearity Correction by i-DReC (0.01-500 mg/L)

■ 杂质分析

Impurity Analysis

图 4 为酮洛芬 500 mg/L 标准溶液的色谱图。酮洛芬的峰强度超过 4 AU，信号出现饱和，如果启用 i-DReC 功能将自动计算线性的校正面积值。因此，对样品中杂质的含量可通过校正面积归一法直接计算。图 4 中的峰顶表示含量。由此可知，通过该方法可以检测到 0.001% 附近极微量的杂质。

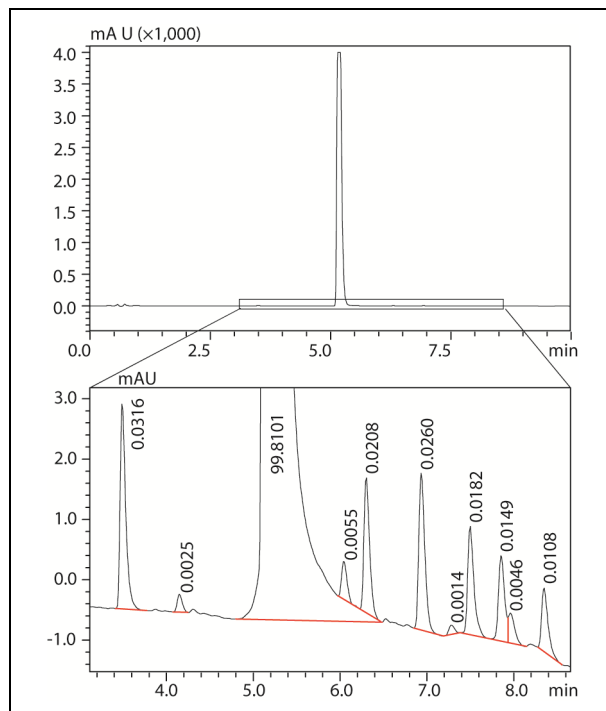


图 4 酮洛芬 500 mg/L 标准溶液的色谱图
Chromatogram of 500 mg/L Ketoprofen Standard Solution

■ 样品残留

Carryover Test

如果样品残留大，将难以进行低浓度区域的定量分析。因此为保持宽线性范围，减少样品残留很重要。图 5 为酮洛芬的样品残留结果。按照先注入最低浓度的标准溶液 (0.01 mg/L)，再注入最高浓度的标准溶液 (500 mg/L)，最后注入空白样品的顺序进样。启用 Nexera X2 系列自动进样器 SIL-30AC 中的“清洗进样针内外壁”功能，可完全抑制样品残留。

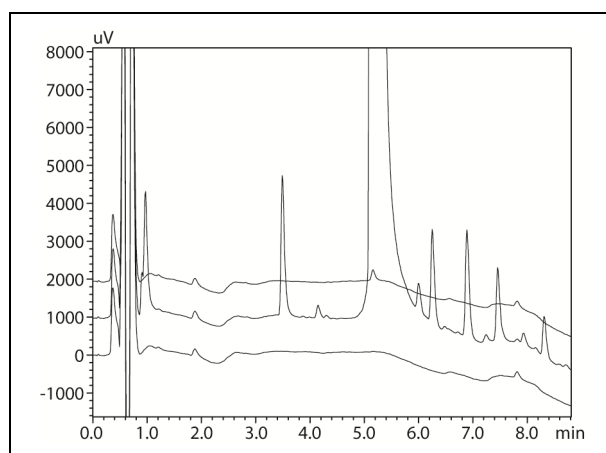


图 5 酮洛芬的残留试验
(上层: 0.01 mg/L, 中层: 500 mg/L, 下层: 空白)
Ketoprofen Carryover Test
(Upper: 0.01 mg/L, Middle: 500 mg/L, Lower: Blank)