

# 使用 Agilent InfinityLab 在线液相色谱系统实现对流动化学反应器中反应过程的实时监测

## 有机酸酯的水解反应

### 作者

Conor Burke, Eóin T. Bourke,  
Brian Mangan, Melba Simon,  
Damian Connolly 和 Brian Glennon  
APC Ltd, 爱尔兰都柏林

Edgar Naegele 和 Daniel Kutscher  
安捷伦科技有限公司

### 摘要

本应用简报介绍了 Agilent InfinityLab 在线液相色谱解决方案与流动化学反应器结合使用的能力。高度准确的直接进样和采样模式可实现不同反应参数对整体反应及其特性影响的测量。采样和分析由安捷伦在线液相色谱监测软件全面协调控制，该软件能够以安全、经济的方式实现实验监测的全自动化。

## 前言

使用流动反应器能够通过连续液流中的化学反应生成所需产物。这是流动反应器与间歇式反应器的主要区别，后者必须在反应前后进行加料和清洗。流动反应化学为生成小分子化合物提供了一种更经济的方法，因此近年来受到了广泛的关注。本应用简报介绍了使用 Agilent InfinityLab 在线液相色谱解决方案对流动化学反应进行监测。选择了有机酸的水解作为示例。结合使用 Agilent 1260 Infinity II Prime Online LC 仪器与安捷伦在线液相色谱监测软件，可实现对实验在线分析的协调控制。利用所得数据，可以优化反应以获得更高产量的目标产品。

## 实验部分

### 仪器

- Agilent 1290 Infinity II 高速泵 (G7120A)
- Agilent 1260 Infinity II 在线样品管理器组件 (G3167AA): Agilent 1260 Infinity II 在线样品管理器 (G3167A), 与 Agilent 1290 Infinity 阀驱动器 (G1170A) 上的外部阀 (部件号 5067-6680) 组合, 以及安捷伦在线液相色谱监测软件
- 用于 1260 Infinity II 在线样品管理器的控温模块 (G7167-60005)
- Agilent 1290 Infinity II 大容量柱温箱 (G7116B), 配备标准热交换器 (G7116-60051)
- Agilent 1290 Infinity II 二极管阵列检测器 (G7117B), 配备最大光强卡套式流通池 (10 mm, G4212-60008)
- 流动化学反应器: 康宁 Advanced Flow 高通量微通道反应器 — 低流量<sup>[1]</sup>

### 软件

- Agilent OpenLab CDS 2.6 版或更新版本
- 安捷伦在线液相色谱监测软件, 1.0 版

### 色谱柱

Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 4.6 × 50 mm, 1.8 μm (部件号 959941-902)

### 分析方法

参数	值
溶剂	A) 水 + 0.1% 甲酸 (FA) B) 乙腈 + 0.1% 甲酸
分析流速	2 mL/min
等度	30% B
停止时间	1.5 min
柱温	50 °C
流通式进样	抽吸速度: 100 μL/min 推出速度: 400 μL/min 抽吸后等待时间: 1.2 s
样品量	1 μL
进样针清洗	3 s, 水:乙腈 1:1, 0.1% 甲酸
内部清洗和再平衡	溶剂 S2
采样	见直接进样法
二极管阵列检测器	243 ± 4 nm, 参比: 390 ± 100, 数据采集速率 40 Hz

### 从反应器液流直接进样

- 抽吸速度: 设置 2 (抽吸速度: 100 μL/min, 等待时间: 3.6 s)
- 对于每个时间点, 使系统达到稳态条件 (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 和阿司匹林以各自相应的流速进料)
- 使用在线 HPLC 监测该过程的进度, 当相关分析物的峰面积百分比表现出令人满意的一致性时记录各值

### 在单个容器中完成批量反应

- 使用硫酸 (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 催化剂
- 使用台式反应容器, 并用磁力搅拌棒进行搅拌
- 热板温度: 75–100 °C
- 0.3 g/L 乙酰水杨酸起始材料 (水溶液)
- 从反应进料直接进样
- Watson Marlow 120 系列蠕动泵: 将反应容器连接到 Agilent 1260 Infinity II 在线样品管理器的接口阀, 使用 C-Flex 蠕动泵管 (C-Flex 6424-13, 内径 0.8 mm)。C-Flex 对许多常见的 LC 和工艺溶剂具有较强的化学兼容性。C-Flex 可以连接到 PEEK 管 (内径: 0.13–0.8 mm), 从而实现与在线液相色谱系统的连接, 并使用在线过滤器保护阀驱动。使用 25 rpm 转速将反应器生成的连续流传输到 Agilent InfinityLab 在线液相色谱系统进行分析

**流动化学反应：**康宁 Advanced Flow 高通量微通道反应器 — 低流量<sup>[1]</sup>。康宁 Advanced Flow 高通量微通道反应器是一种可配置的模块化微流控装置，具有专用的微流控区，可将反应物与随后的接触式微流控芯片混合，以优化反应。整套微流控芯片可以保持恒温，并通过注射泵将反应物送入混合芯片（图 1）。

对于所有实验，将热交换器设置为 86 °C。乙酰水杨酸的浓度为 0.016 mol/L。硫酸的浓度分别为 0.16、0.375、0.75 和 1.5 mol/L。停留时间分别为 1、5、10、30 和 60 分钟（相应的反应器进料流速见表 1）。

## 溶剂和化学品

- 所有溶剂均购自德国 Merck 公司
- 化学品购自德国 VWR 公司
- 新制超纯水产自配置 LC-Pak Polisher 和 0.22 μm 膜式终端过滤器 (Millipak) 的 Milli-Q Integral 水纯化系统

## 其他材料

- 安捷伦 96 孔板，0.3 mL，聚丙烯（部件号 5043-9305）
- 安捷伦密封垫，96 孔，圆形，经预切，硅橡胶（部件号 5043-9317）
- 安捷伦棕色广口样品瓶（部件号 5182-0716）、安捷伦锥形内插管（部件号 5181-1270）和安捷伦螺口盖（部件号 5182-0721）

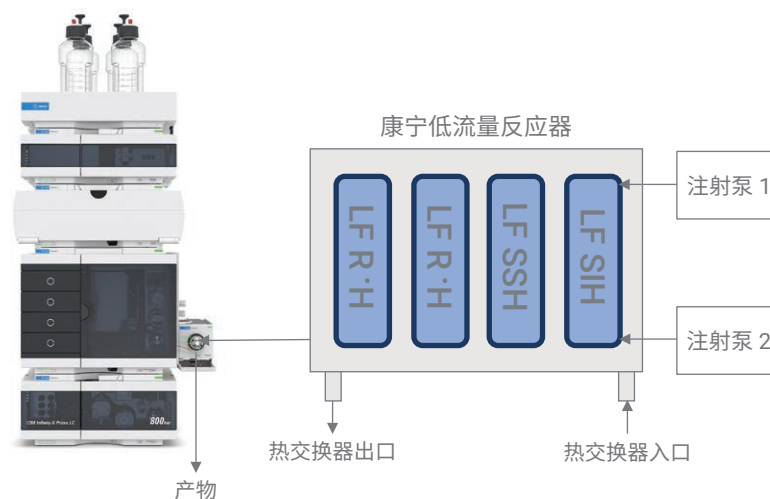


图 1. 康宁低流量反应器与 Agilent InfinityLab 在线液相色谱解决方案的连接示意图。（LF-SHH：0.5 mL，一个注射区接触两个反应物。LF-R × H，0.5 mL 混合芯片，“一进一出”）

表 1. 根据乙酰水杨酸和 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 在流动反应器中的停留时间，由两个注射泵提供的反应器进料流速

停留时间 (min)	注射泵 1 乙酰水杨酸进料 (mL/min)	注射泵 2 H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 进料 (mL/min)	组合流速 (mL/min)
1	1.0	1.0	2.0
5	0.2	0.2	0.4
10	0.102	0.102	0.204
30	0.034	0.034	0.068
60	0.017	0.017	0.034

## 结果与讨论

为实现可靠的反应监测，仪器设置必须能够获得高精度的峰面积和保留时间。为确保该设置可生成高质量数据，将 0.2 mg/mL 乙酰水杨酸和水杨酸的混合物从反应容器泵送至 Agilent InfinityLab 在线液相色谱系统，每 3 分钟抽吸一次样品并立即进行分析。结果表明，分离速度快，两个峰的分离度高。乙酰水杨酸和水杨酸的峰面积精度分别为 1.1% 和 1.3%，保留时间精度分别为 0.07% 和 0.06%（图 2）。乙酰水杨酸和水杨酸之间的峰分离度为 5.8，该色谱法具有在 30 秒内实现分离的潜力。这些结果表

明，峰面积百分比和保留时间以及两种分析物的分离度和峰形均具有良好的重复性。使用蠕动泵作为来自反应容器的取样装置表现出很强的可靠性。

作为评估 Agilent InfinityLab 在线液相色谱系统与流动化学反应器组合应用的模型反应，我们选择了酸催化水解乙酰水杨酸（阿司匹林）（图 3）。如之前的应用简报中所述，该反应还可用于在碱性条件下评估 Agilent InfinityLab 在线液相色谱解决方案与间歇式反应器的组合<sup>[3]</sup>。结果证明，可以直接从反应器液流中抽吸样品，然后进行淬灭/稀释和分析。对于快速反应，也证明了可以直接进样。

如实验部分所述，在反应的第一次测试中使用间歇式反应器。图 4 表明，乙酰水杨酸和水杨酸随着间歇式反应器中反应的进行实现了快速分离。按上述顺序列出了保留时间精度。

为了优化流动反应条件下的反应，对停留时间和酸浓度进行了更仔细的研究。为了改变流动反应器中的停留时间，对输送硫酸和乙酰水杨酸溶液的注射泵流速进行了相应的调整。乙酰水杨酸的温度和浓度分别保持在 86 °C 和 0.016 mol/L 不变。从流动反应器中流出的液流与在线液相色谱系统连接，并且每 3 分钟抽吸一次样品。当反应物和产物的峰面积百分比恒定时达到稳态。此时，通过抽吸 6 个样品来计算结果。

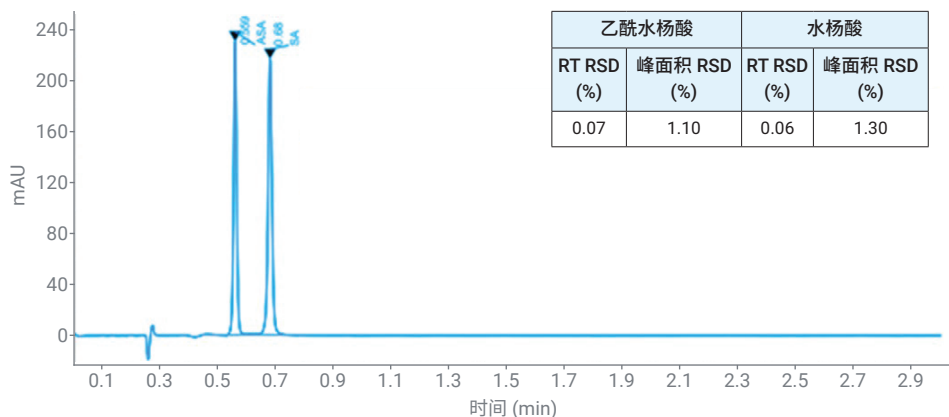


图 2. 仪器设置的性能测试，包括间歇式反应器和蠕动采样泵

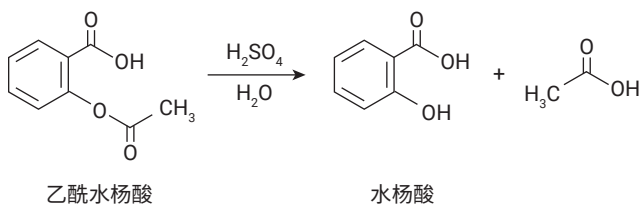


图 3. 乙酰水杨酸（阿司匹林）酸催化水解为水杨酸和乙酸

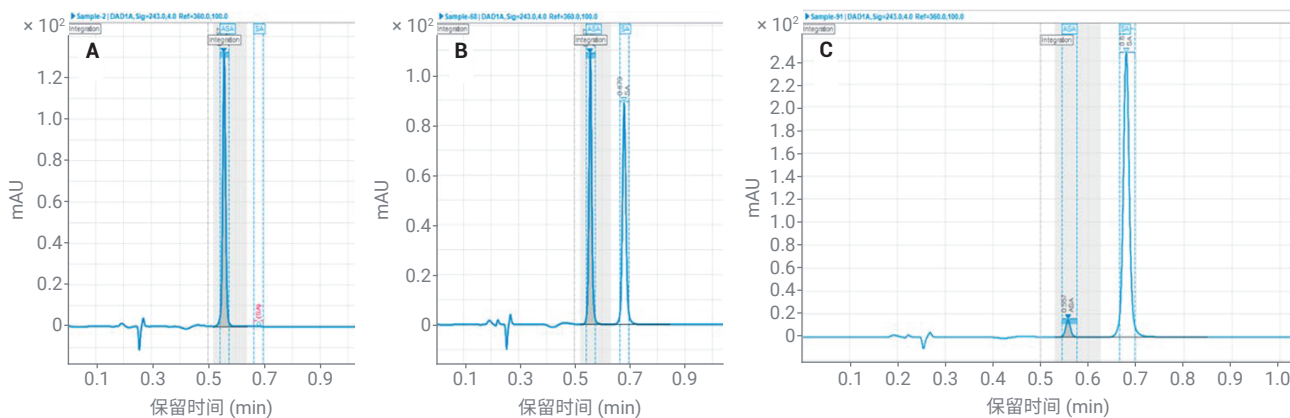


图 4. 间歇式反应器中乙酰水杨酸的酸催化水解进展。(A) 乙酰水杨酸开始反应。(B) 大约一半的乙酰水杨酸水解为水杨酸。(C) 几乎完全反应

评估的第一个参数是反应物在流动反应器中的停留时间。通过设置注射泵的流速以达到 1、5、10、30 和 60 分钟的停留时间（表 1）。达到稳态后，计算 6 次测量获得的峰面积百分比精度（表 2）。例

如，当停留时间为 30 分钟时，乙酰水杨酸的峰面积百分比为 70.10%，水杨酸的峰面积百分比为 29.90%。RSD 值分别为 0.01% 和 0.02%。

反应物峰面积百分比下降以及生成的产物的峰面积百分比如图 5 所示。例如，当停留时间为 60 分钟时，反应物乙酰水杨酸的峰面积下降了 54.81%，生成的产物水杨酸的峰面积百分比为 52.80%，离开反应器的混合物中产生了 2.01% 的杂质（表 2）。

表 2. Agilent InfinityLab 在线液相色谱解决方案在峰面积百分比方面的性能

停留时间 (min)	峰面积 (%) ASA Avg	峰面积 (%) ASA StDev	峰面积 (%) ASA RSD	峰面积 (%) SA Avg	峰面积 (%) SA StDev	峰面积 (%) SA RSD	峰面积 (%) Imp. Avg	峰面积 (%) Imp. StDev	峰面积 (%) Imp. RSD
1	95.02	0.27	< 0.01	4.98	0.27	0.05	N/A	N/A	N/A
5	89.84	0.19	< 0.01	9.82	0.20	0.02	0.34	0.01	0.02
10	84.30	0.27	< 0.01	15.70	0.27	0.02	N/A	N/A	N/A
30	70.10	0.52	0.01	29.90	0.52	0.02	N/A	N/A	N/A
60	45.19	0.23	0.01	52.80	0.18	< 0.01	2.01	0.06	0.03

ASA: 乙酰水杨酸, SA: 水杨酸, Imp.: 杂质, Avg: 平均值, StDev: 标准偏差, RSD: 相对标准偏差

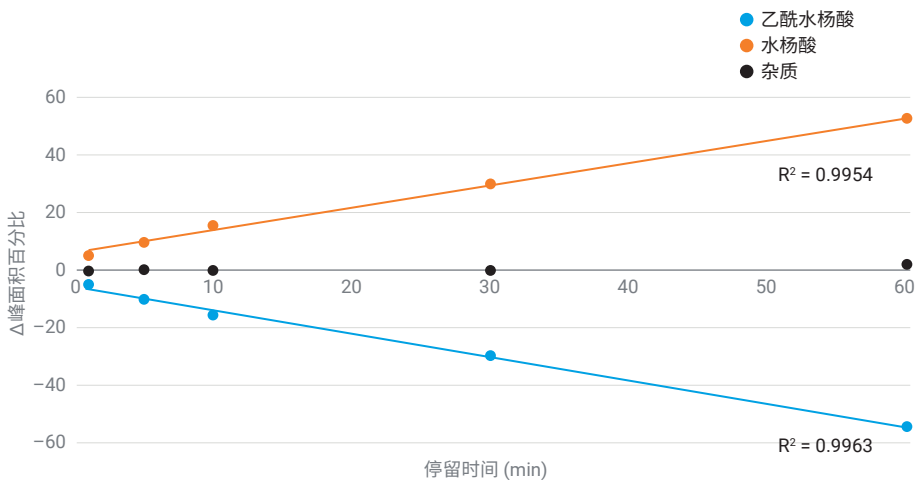


图 5. 在选定的停留时间后离开反应器的反应组分的组成。还显示了出现的杂质

保持反应混合物在流动反应器中停留 1 小时的条件不变，改变硫酸浓度以考察其对反应进程的影响。如图 6 所示，当使用 1.5 mol/L 硫酸时，反应物几乎完全水解，但缺点是杂质浓度升高。在这些条件下，乙酰水杨酸减少 95.55%，生成 78.88% 的水杨酸和 15.87% 的副产物（表 3）。

## 结论

本应用简报介绍了使用 Agilent InfinityLab 在线液相色谱解决方案和微流控反应器的组合对反应条件进行优化。在每 3 分钟一个采样周期下，获得了出色的峰面积和保留时间精度。这些结果表明，Agilent InfinityLab 在线液相色谱解决方案是研究反应特征参数以进行反应优化的理想选择。这有助于大幅提高流动化学法中高价值产物的产率。

## 参考文献

1. [www.corning.com](http://www.corning.com)
2. [https://www.corning.com/media/worldwide/Innovation/documents/LF\\_WEB.pdf](https://www.corning.com/media/worldwide/Innovation/documents/LF_WEB.pdf)
3. Naegele, E.; Kutscher, D. 利用 Agilent InfinityLab 在线液相色谱解决方案进行在线反应监测，安捷伦科技公司应用简报，出版号 5994-3528ZHCN，2021

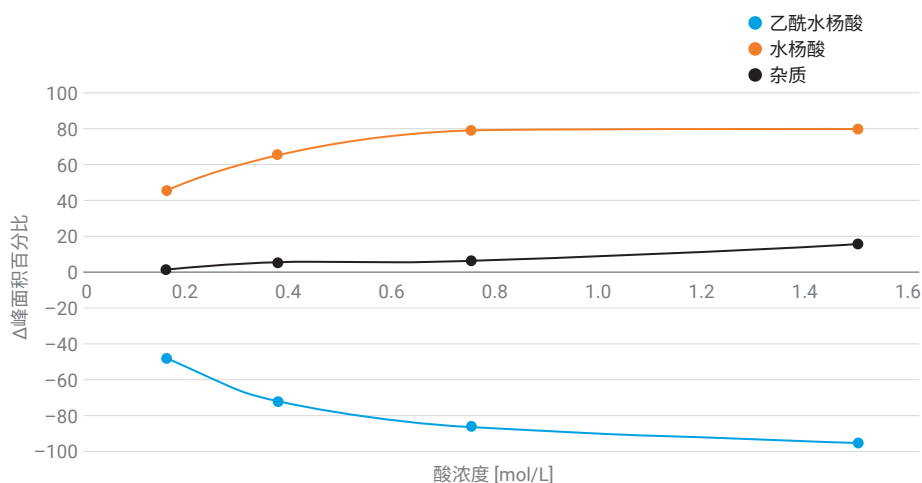


图 6. 离开反应器的反应组分的组成，取决于所选的硫酸浓度。还显示了出现的副产物

表 3. 得到的反应物乙酰水杨酸和产物水杨酸的组成，取决于流动反应器中硫酸的浓度。还显示了出现的杂质（AP = 峰面积百分比）

酸浓度(mol/L)	Δ (AP) 乙酰水杨酸	Δ (AP) 水杨酸	Δ (AP) 杂质
0.16	-47.57	45.71	1.86
0.38	-71.32	65.59	5.73
0.75	-85.59	79.03	6.56
1.50	-95.17	79.88	15.87

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

DE76194294

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，2022  
2022 年 6 月 2 日，中国出版  
5994-4733ZHCN

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)

