

流动气体捕集法测定贯叶连翘提取物中大孔树脂残留物

曹 进 徐 燕 王义明 罗国安*

(清华大学化学系分析中心, 北京 100084)

摘 要 采用流动气体捕集法, 通过 GC/MS 法测定贯叶连翘提取物中大孔树脂残留物-苯、甲苯和二乙烯苯。与萃取、回流和顶空进样三种处理方式比较, 自制的流动气体捕集装置能够很好地收集待测成分并有效地消除干扰。整体(流动气体捕集法处理 + 含量测定)检出限和回收率(苯: 0.3 ng/g, 99.0%; 甲苯: 0.8 ng/g, 99.5%; 二乙烯苯: 0.5 ng/g, 99.2%), 与 GC/MS 法所得结果(苯: 0.1 ng/g, 99.2%; 甲苯: 0.2 ng/g, 99.4%; 二乙烯苯: 0.1 ng/g, 99.2%) 无显著差别, 说明该法有较低的检出限和良好的回收率。经其他 3 种方式处理后, 检出限变差回收率下降。结果证明流动气体捕集法适于中药提取物中大孔树脂残留物的定量检测。

关键词 流动气体捕集, 气相色谱/质谱联用, 大孔树脂

1 引 言

大孔树脂是一种不含交换基团、具有大孔结构的高分子亲脂性吸附剂。因其选择性好、机械强度高、再生方便、吸附速度快而适用于从水溶液中分离弱极性或非极性化合物, 常用于中药有效成分提取^[1]。通常使用的大孔树脂一般是用苯乙烯作单体, 以甲苯和二甲苯为致孔剂, 经二乙烯苯交联而成^[2]。其中常会由于聚合反应引入一些杂质, 包括苯、甲苯、二甲苯、乙基苯、乙烯苯、二乙烯苯、环烷、烷烃等, 使用前要经过处理, 并对残留物质进行测定^[3]; 同时考虑到药品的特殊性, 一般采用 GC 方式, 检查处理前后大孔树脂、药品提取物中的残留情况^[4]。由于中药提取物成分的复杂性, 在气相分离中, 往往没有适宜的色谱检测窗口, 例如实验的贯叶连翘提取物会在测定过程中产生较多挥发性成分色谱峰, 干扰了待测成分的检测。对于中药大孔树脂提取物中残留物的测定研究, 鲜见报道。本文利用气相色谱-质谱联用法(GC/MS)测定了贯叶连翘提取物中大孔树脂 D101 的残留物情况, 比较了 4 种样品处理方式, 最终确定自制的流动气体捕集装置进行的样品处理方式专属性最强, 被测成分转移完全, 适用于中药提取物中大孔树脂残留物的检测。

2 实验部分

2.1 仪器和试剂

GC Autosystem XL/ Turbo Mass(美国 PE 公司); 流动气体捕集器(自制)。

D101 型大孔树脂(天津骨胶厂); 贯叶连翘提取物(中国中医研究院中药研究所); 乙酸乙酯、无水碳酸钾(分析纯, 北京第二化工厂); 对照品: 苯(沸点 80.1)、甲苯(沸点 110.6)、二乙烯苯(沸点 195)(南开大学化工厂)。

2.2 检测条件

GC 条件: 色谱柱为 SE-54 弹性毛细管柱(30 m × 250 mm, 涂层 0.25 mm, 美国 Supelco 公司); 载气(氦气)流速: 1.0 mL/min; 分流比 10:1; 进样口温度: 150; 升温程序: 60 $\xrightarrow{10^\circ/\text{min}}$ 100 (2 min) $\xrightarrow{10^\circ/\text{min}}$ 250 (5 min); 进样: 2 mL。

MS 条件: 离子源(EI)温度: 220; 四极杆温度: 150; 电子能量: 70 eV; 发射电流: 35 mA; 倍增电压: 510 V; 质量范围: 30 ~ 700 amu; 分辨率: 0.1 amu。

2.3 样品和标样的制备

乙酸乙酯的提纯: 加入无水碳酸钾, 放置几天后过滤、蒸馏, 收集 76 ~ 77 馏分。样品制备: 取大孔

2002-12-25 收稿; 2003-05-07 接受
本文系国家 973 重点基础研究项目资助(No. G199054404)

树脂经过乙醇及酸碱处理前后样品、贯叶连翘过柱后样品(方法考察及验证采取标准添加的方式,按 2 $\mu\text{g/g}$ 苯限量加入 3 种苯系对照品,混合均匀作为样品),分别经萃取、回流、固体顶空进样和流动气体捕集方式进行样品处理,其中所用溶剂为纯化的乙酸乙酯。对照品制备:分别取苯、甲苯和二乙烯苯对照品,以乙酸乙酯溶解,配制 5 个浓度水平的溶液。

3 结果和讨论

3.1 色谱条件的选择

GC/MS 法用于挥发性残留物质检测,可以直接定性,且检测灵敏度也较高,但是会受到共存物质的干扰,即使利用选择离子的模式,也会因为碎片离子的不稳定而使结果不准确。大孔树脂 D101 为苯乙烯型树脂,聚合过程中主要残留物为苯、甲苯和二乙烯苯。因此,选择此 3 种成分为指标。实验采用样品及贯叶连翘提取物中加入 3 种对照品的方式进行 GC/MS 方法摸索,为与干扰成分得到有效分离,并考虑待测成分的极性和沸点,选择 SE54 型色谱柱,通过程序升温进行测定;另外考察了空白样品(大孔树脂处理用试剂空白、溶剂空白、处理体系空白)的情况,没有发现待测成分,说明分析体系不存在检测干扰。

3.2 色谱方法学考察

对 GC/MS 测定法进行了精密度、重复性、样品稳定性(样品溶液在 0、2、4、6、8、12、16、20、和 24 h 测定)考察,标准曲线以色谱峰面积对样品浓度(mg/g)回归,结果见表 1。由于回流方式引入干扰成分最多,故重复性和稳定性考察采用了经回流方式处理所得的样品。由表 1 可以看出,GC/MS 测定方法线性范围宽,有较好的重复性和稳定性。

表 1 GC/MS 测定方法方法学考察结果

Table 1 Results of evaluation of gas chromatography/mass spectrometric (GC/MS) method

化合物 Compound	线性范围 Linear range (mg/g)	回归方程 Regression equation ($n=5$)	精密度 Precision RSD ($\%, n=5$)	重复性 Repetition RSD ($\%, n=5$)	稳定性 Stability RSD ($\%, n=9$)
苯 Benzene	0.01 ~ 100	$Y = 2715.6X + 1.352$	1.5	1.3	1.8
甲苯 Toluene	0.02 ~ 120	$Y = 1537.4X - 3.254$	1.4	1.6	1.3
二乙烯苯 Divinylbenzene	0.05 ~ 90	$Y = 3369.2X + 2.317$	1.5	1.6	1.7

3.3 样品处理方式的考察

样品的处理和富集方式,是测定痕量物质的关键步骤,直接影响检测结果。实验中考察了 4 种样品处理方式:其中萃取采用固体样品直接溶剂萃取的方式,并考察了萃取体积和次数;回流方式考察了回流体积、时间和温度;顶空方式考察了平衡时间、容积和温度的影响。结果表明:上述 3 种方式都会大量引入样品(特别是贯叶连翘提取物)中共存物质干扰,以回流方式引入最多;顶空方式随温度升高带来的干扰也增多,特别是顶空室温度达到 100 $^{\circ}\text{C}$ 时,无论是大孔树脂或贯叶连翘样品,均会产生很大干扰。但在平衡温度较低时待测成分转移率也降低,不适于测定。

实验采用自制的流动气体捕集装置(见图 1)进行处理是最好的方式。它是将高纯氮气(流速在 0.8 ~ 1.5 mL/min 内不影响结果,实验采用 1 mL/min),经加热室 1(起始温度 150 $^{\circ}\text{C}$,保持 10 min 后,改为 200 $^{\circ}\text{C}$,保持 20 ~ 30 min)盘管,通过加热室 2 中的样品池(起始温度 80 $^{\circ}\text{C}$,保持 10 min 后,改为 65 $^{\circ}\text{C}$,保持 20 ~ 30 min),最后进入收集器中(收集溶剂为纯化的乙酸乙酯,收集 30 ~ 40 min)。经实验验证,该法能够很好的收集待测成分,并有效的消除干扰,验证图谱见图 2。图谱为整体色谱图截取成分测定部分,溶剂空白截除为标示,溶剂保留时间约 1 min。

3.4 样品处理方式评价

由图 2 看出,苯限量值的 3 个标准品在实验 GC/MS 法下均可以在样品中很好的显示,而流动气体捕集处理法引入干扰物质最少,且有较好的检出和回收,检出限及回收率见表 2(数据通过测定贯叶连翘提取物样品得到)。表中列出了检出限、回收率和总检出限、总回收率,前者是利用对照品乙酸乙酯溶液直接测得的 GC/MS 法结果;后者是包括样品处理和测定两个过程,针对样品检测的结果。从结果看

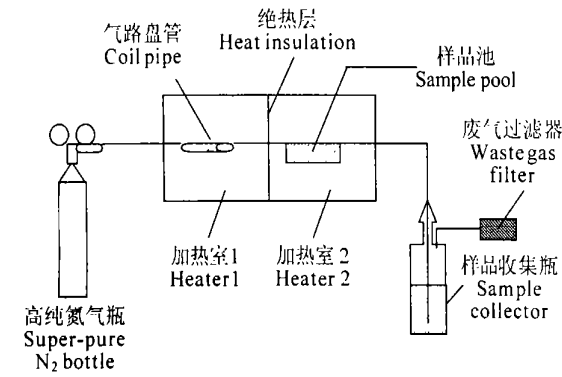


图 1 流动气体捕集装置图

Fig. 1 Sketch map of flow gas capture set

出,GC/MS 法本身有较低的检出限和良好的回收率;而经样品处理后,萃取、回流和顶空三者的检出限几乎提高了一个数量级,回收率也有较大的下降,说明这 3 种处理方式存在较大的干扰;而流动捕集法在检出限和回收率方面则变化较小,这主要是利用热气体、冷样品的方式很好地降低了干扰物质的水平。

表 2 测定方法与总分析方法(处理加测定)的检出限和回收率

Table 2 Limit of detection (LOD) and recovery of determination and the whole method (preparation + determination)					
化合物 Compound	方法 method	检出限 LOD(ng/ g)	回收率 Recovery (%, n = 5)	总检出限 Total LOD (ng/ g)	总回收率 Total recovery (%, n = 5)
苯 Benzene	萃取 Extraction	0.1	99.2 %	7	96.3
	回流 Reflux			6	97.2
	顶空 Headspace			9	95.4
	流动捕集 Flow-capture			0.3	99.0
甲苯 Toluene	萃取 Extraction	0.2	99.4 %	9	97.8
	回流 Reflux			7	97.4
	顶空 Headspace			8	96.2
	流动捕集 Flow-capture			0.8	99.5
二乙烯苯 Divinyl-benzene	萃取 Extraction	0.1	99.2	9	96.9
	回流 Reflux			5	97.6
	顶空 Headspace			7	96.3
	流动捕集 Flow-capture			0.5	99.2

3.5 实际样品测定

经过处理大孔树脂 D101 的残留基本可以满足规定的限量要求^[5],实际的提取物中没有检出残留物。从本实验可以发现,对复杂体系中挥发性成分的特异性检测,需要针对检测成分采用特殊的处理方式。萃取、回流方式是物质成分提取的常用方法,用于简单物质体系时可以获得满意的结果(如本实验中大孔树脂样品的测定,结果未列出),但存在较多干扰成分时,就不能得到良好的结果。采用流动气体捕集法,将气体和样品加热分至不同的加热室中,可以利用热气体、冷样品的方式有效的将待测成分提取出来,从实验结果可以看出这种方式对复杂样品体系中沸点跨度较大的物质成分有着有效的提取功能,能够满足残留物质测定的要求,同时处理时间也满足一般样品分析周期的要求。

总之,中药微量或痕量物质的检测要求分析体系在稳定、可靠的同时,具有较强的专属性,共存物质干扰的排除是其中的关键。本实验证明,流动气体捕集法具有良好的专属性,大大降低了共存物质的干扰,且没有损失含量测定方法的灵敏度和准确性。这在中药大孔树脂提取物残留检查中,具有代表性,有一定的实践意义。

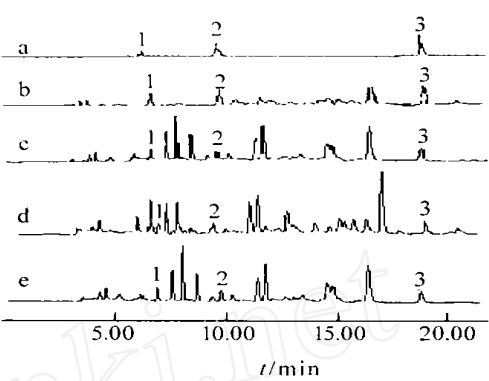


图 2 残留物质检查验证色谱图

Fig. 2 Chromatogram of Herba Hyperici Perforat extraction residue

1. 苯 (benzene); 2. 甲苯 (toluene); 3. 二乙烯苯 (divinylbenzene)。注(note):加入每种对照品 2 μg/ g (add in 2 μg/ g every standard compound)。a, b, c, d, e 依次为对照品图、流动气体捕集处理、顶空进样(100)、回流、萃取(the chromatograms were standard, flow gas capture, headspace (100), reflux, extraction, from a to e respectively)。

References

- 1 Han Li(韩 丽). *New Technology of Practical TCM Preparation*(实用中药制剂新技术). Beijing(北京):Chemical Industry Press(化学工业出版社),2002:167~168
- 2 Hu Jun(胡 军),Zhou Yuehua(周跃华). *Chinese Traditional Patent Medicine*(中成药),2002,24(2):127~129
- 3 Shi Zuoqing(史作清),Shi Rongfu(施荣富),Fan Yunge(范云鸽),Wang Chunhong(王春红),Sun Jiangxiao(孙江晓). *Chinese Traditional and Herbal Drugs*(中草药),2001,32(7):660
- 4 Ling Ningsheng(凌宁生),Liu Zhiqing(刘志青),Li Lin(李 林),Liu Guangjin(刘光进). *Chinese Traditional and Herbal Drugs*(中草药),2002,33(2):122~124
- 5 State Drug Administration(国家药品监督管理局). *The Technology Requirement of Purified TCM Extract Solution*(大孔吸附树脂分离纯化中药提取液的技术要求),2000

Determination of Macro-porous Resin Residue in *Herba Hyperici Perforat* Extraction by Flow Gas Capture Method

Cao Jin, Xu Yan, Wang Yiming, Luo Guoan *

(Analysis Center of Chemistry Department, Tsinghua University, Beijing 100084)

Abstract By using gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS), the flow gas capture method was studied in the assay of macro-porous resin D101 residue, benzene, toluene and diviylbenzene, in *Herba Hyperici Perforat* Extract. Comparing with 3 other methods of preparation (extraction, reflux and headspace). It shows that the flow gas capture is the best method due to the low limit of detection (LOD) and high recovery. The total (preparation plus analysis) LOD is 0.3, 0.8 and 0.5 ng/g, the total recovery is 99.0%, 99.5%, 99.2% for benzene, toluene and diviylbenzene respectively, without significant difference from those of other GC/MS determination method (with the LOD 0.1, 0.2, 0.1 ng/g and the recovery 99.2%, 99.4%, 99.2% for benzene, toluene and diviylbenzene, respectively) was observed.

Keywords Flow gas capture, gas chromatography/mass spectrometry, macro porous resin

(Received 25 December 2002; accepted 7 May 2003)

《化学修饰电极》修订版问世

《化学修饰电极》一书于 1995 年出版以来,受到相关领域广大读者的欢迎。随着 21 世纪科技的迅猛发展,如超分子化学、分子自组装和纳米诸多新技术等引入化学修饰电极领域,极大地推进其研究迈向更高水平,紧密与仿生、微型化相联,其研究和应用意义重大。结合国际上的发展趋势和电分析化学国家重点实验室的研究实践,出版了《化学修饰电极》修订版。

《化学修饰电极》修订版增加了“分子自组有序膜”一章,重点论述了分子自组装的基本原理和实验方法,不同基底电极上单层膜、多层膜、双层磷脂膜以及纳米有序膜的制备、表征及应用。该书反映了化学修饰电极领域的研究前沿,具创新性和代表性。

《化学修饰电极》修订版作为《中国科学院研究生教学丛书》,可供从事分析化学、物理化学、电分析化学及相关边缘学科工作者研究和教学参考。

《化学修饰电极》修订版于 2003 年 2 月由科学出版社(北京市东黄城根北街 16 号 邮编 100717)出版,共一百万字,订价 62 元。