

固相萃取 - 气相色谱 - 质谱法测定 二羟丙茶碱中痕量 3 - 氯 - 1,2 - 丙二醇

李润岩 范斌 何淑娟 俞婧 张京

(河北省食品质量监督检验研究院 石家庄 050091)

摘要 目的: 建立二羟丙茶碱中痕量 3 - 氯 - 1,2 - 丙二醇(3 - MCPD) 的气相色谱 - 质谱联用定性定量方法。方法: 试样经饱和氯化钠提取, 弗罗里硅土层析柱分离净化, 旋转蒸发浓缩, 三氟乙酸酐衍生后, 进行气相色谱 - 质谱联用(SIM 模式) 检测。结果: 3 - 氯 - 1,2 - 丙二醇在 10 ~ 500 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 范围呈良好线性关系($r = 0.9993$, $n = 5$) 检出限为 2.3 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 三水平加标回收率均在 96% 以上, RSD 在 0.249% ~ 1.151% 之间。结论: 该方法灵敏度高, 重现性好, 适用于药品中痕量 3 - 氯 - 1,2 - 丙二醇的测定。

关键词: 固相萃取; 气相色谱 - 质谱; 3 - 氯 - 1,2 - 丙二醇; 二羟丙茶碱; 检测

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254 - 1793(2011)03 - 0564 - 03

SPE/GC - MS determination of 3 - mono - chloropropane - 1,2 - diol residue in diprophylline

LI Run - yan, FAN Bin, HE Shu - juan, YU Jing, ZHANG Jing

(HeBei Institute of Food Quality Supervision Inspection and Research, Shijiazhuang 050091, China)

Abstract Objective: A new method for the determination of 3 - Mono - chloropropane - 1,2 - diol residue in diprophylline was established. **Methods:** The sample was pre-separated with a magnesium trisilicate. 3 - Mono - chloropropane - 1,2 - diol residue was derivatized with Trifluoroacetic acid anhydride and determined by gas chromatography - mass spectrometry(GC - MS) with the single - ion monitoring mode. **Results:** The linearity over the concentration range 10 - 500 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($r = 0.9993$, $n = 5$) was obtained. the detection limit of 3 - MCPD was 2.3 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, the recovery rate was over 96%. The relative standard deviation of the precision and the reproducibility for the proposed method were 0.389% and 0.252%. **Conclusion:** The method is fast and sensitive, can be used it to analyze trace 3 - MCPD in medicines.

Key words: solid phase extraction; gas chromatography - mass spectrometry; 3 - mono - chloropropane - 1,2 - diol; diprophylline; determination

二羟丙茶碱为磷酸二酯酶的抑制药, 常用于治疗支气管哮喘、喘息型支气管炎、阻塞性肺气肿等, 起缓解喘息症状作用, 也可用于治疗心源性哮喘^[1]。3 - 氯 - 1,2 - 丙二醇(3 - MCPD) 是该药中间体的反应物, 在产品中有痕量残留。3 - 氯 - 1,2 - 丙二醇的毒性会影响人体肾脏及生育能力, 是国际关注的强致癌物, 在药品中监测其含量具有十分的必要性。部分学者^[2~8] 研究了酱油等产品中 3 - 氯 - 1,2 - 丙二醇的分析方法, 但是对药品中的 3 - 氯 - 1,2 - 丙二醇残留量的研究尚未见报道。本文

使用固相萃取 - 气相色谱 - 质谱法建立了二羟丙茶碱中痕量 3 - 氯 - 1,2 - 丙二醇的检测方法, 灵敏度高, 重现性好, 适用于药物中该物质的质控。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

仪器: 气相色谱 - 质谱联用仪(美国 Agilent 6890N/5973i MS), 配 7683B 自动进样器和 HP - 5MS(二苯基 - 95% 二甲基硅氧烷, 30m × 0.25 mm, 0.25 μm) 毛细管色谱柱; 离心机: 10000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$; 马弗炉 400 ~ 600 $^{\circ}\text{C}$; 超声清洗机: 超声最大功率为

100 W。

试剂: 正己烷(重蒸,分析纯);无水乙醚(重蒸,分析纯);3-氯-1,2-丙二醇标准品购自 SIG-MA 公司;无水硫酸钠:于 550 °C 下灼烧 6 h,储存于密闭容器中备用;弗罗里硅土:于 550 °C 下灼烧 6 h,使用前 150 °C 下活化 1 h,冷却后,储存于密闭容器中备用。其他试剂均为分析纯,试验用水为二次蒸馏水;二羟丙茶碱供试品由石药某公司提供。

1.2 样品预处理

提取:精确称定二羟丙茶碱 2.0 g,加入饱和氯化钠溶液 30 mL,混合均匀,超声 30 min。

净化:在 15 mm (ID) × 300 mm 柱中依次装入无水硫酸钠 0.5 cm、弗罗里硅土 10 g、无水硫酸钠 1 cm,以 15 mL 无水乙醚活化。上样后,以 60 mL 正己烷-无水乙醚(9:1)淋洗,以 100 mL 无水乙醚洗脱,洗脱液收集于 250 mL 的平底烧瓶中,于 40 °C 旋转蒸发至约 10 mL,转入离心瓶中,用 10 mL 正己烷分两次洗涤平底烧瓶,并入离心瓶后,浓缩至约 5 mL。

衍生:向浓缩液中注入三氟乙酸酐 100 μL,摇匀,室温静置 45 min,将 10 mL 蒸馏水分两次加入,每次剧烈振荡 1 min,以 10000 r · min⁻¹ 离心 2 min,有机相过无水硫酸钠柱,收集于 10 mL 刻度试管中,用少量正己烷淋洗无水硫酸钠柱,定容,待测。

1.3 标准品配制 取 3-氯-1,2-丙二醇标准品适量,用正己烷配成浓度约为 1 mg · mL⁻¹ 的储备液,根据需要配成适当浓度的工作液;取 3-氯-1,2-丙二醇工作液适量,于 50 mL 离心管中,加入 5 mL 正己烷,用定量加液器吸收 100 μL 三氟乙酸酐,注入浓缩液中,摇匀,其他步骤与样品衍生相同。

1.4 色谱及质谱条件

程序升温:初温 50 °C,保持 1 min,15 °C · min⁻¹ 升温 90 °C,20 °C · min⁻¹ 升温至 250 °C 保持 7 min。载气为氦气,流速 1.0 mL · min⁻¹,离子源和接口温度分别为 230 °C 和 280 °C,进样口温度 280 °C,进样量 1 μL,电子轰击离子源(EI),能量 70 eV;采用选择离子模式(SIM)检测。

2 结果与分析

2.1 色谱条件选择 实验研究了不同初始温度和不同升温速率对 3-氯-1,2-丙二醇检测结果的影响。试验结果表明,采用初温 50 °C,保持 1 min,15 °C · min⁻¹ 升温至 90 °C,20 °C · min⁻¹ 升温至 250 °C 保持 7 min。即可获得较好的检测结果。在优化条件下,获得的 3-氯-1,2-丙二醇的特征离

子(第一个碎片离子为定量离子)为: m/z 153, 175, 253。使用优化条件进行标准溶液检测,采用选择质谱 SIM 模式,结果如图 1、2 所示。

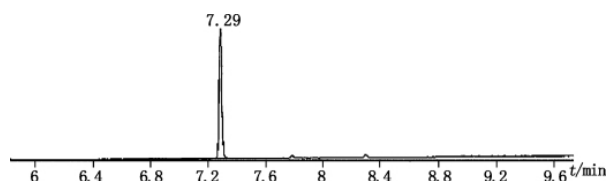


图 1 3-氯-1,2-丙二醇标准溶液(200 μg · kg⁻¹) 总离子流图

Fig 1 GC-MS (SIM) chromatograms of 3-Mono-chloropropane-1,2-diol

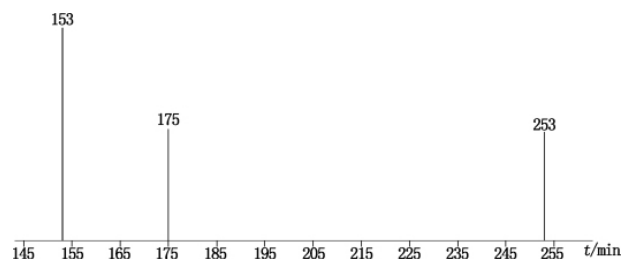


图 2 3-氯-1,2-丙二醇质谱图

Fig 2 GC-MS (SIM) mass spectra of 3-Mono-chloropropane-1,2-diol

2.2 预处理条件的优化

2.2.1 提取 由于 3-氯-1,2-丙二醇含有二个羟基易溶于水,当它在饱和氯化钠溶液中时,很难用有机溶剂通过液-液分配直接提取。根据文献报道,一般采用柱层析的方法进行提取,层析柱大都选择硅藻土与样品拌匀,而硅藻土有强吸水性,当液体样品与它拌和时,就将水分吸收。当再用有机溶剂淋洗时,3-氯-1,2-丙二醇就较容易洗脱。本法也采用硅藻土进行层析。先用一定比例的正己烷与乙醚混合液预淋洗,以淋去部分低极性的杂质,继用纯乙醚洗脱 3-氯-1,2-丙二醇。

2.2.2 衍生化 根据文献报道,3-氯-1,2-丙二醇直接由 GC-ECD 测定,其重现性较差,必须经过衍生后测定,其结果才较稳定^[9]。国外早期采用苯硼酸钠衍生法,但后来发现其质谱碎片的灵敏度不够。目前采用(HFBI)即“七氟丁酰咪唑”衍生法,质谱碎片的灵敏度高,但需在 70 °C 下密闭反应,对操作和器皿有特殊的要求^[10]。本方法采用的是三氟乙酸酐作为衍生剂,在室温下反应 30 min 即可,测定结果也较好。

2.3 线性关系、精密度和重复性

配制浓度为 10, 50, 100, 200, 500 μg · kg⁻¹ 的 3-氯-1,2-丙二醇标准溶液,按照“1.3”和“1.4”项下分析。3-氯-1,2-丙二醇的保留时间约为

7.29 min。以标准溶液浓度为横坐标,丰度为纵坐标,丰度与浓度呈线性关系。试验结果表明在 $10 \sim 500 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 范围内,线性良好,线性方程为

$$Y = 93.455X + 1054.5 \quad r = 0.9993$$

取 3-氯-1,2-丙二醇标准溶液进样,按照所选定的仪器条件,重复进样 6 次,测定每次的丰度值,计算出精密度的相对标准偏差 RSD 为 0.389%。

取 3-氯-1,2-丙二醇标准溶液分成 6 份,按照所选定的仪器条件,分别取 $1 \mu\text{L}$ 注入气相色谱仪,计算出重复性的 RSD 为 0.252%。

2.4 检出限和回收率

按照 3 倍信噪比 ($S/N = 3$) 计算方法的检出限为 $2.3 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。采用在不含 3-氯-1,2-丙二醇的二羟丙茶碱中添加 3-氯-1,2-丙二醇法进行回收率的考察,试验中我们考察了 3 个加标梯度: $15, 90, 450 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 进样次数 $n = 3$, 分别取 $1 \mu\text{L}$ 注入气相色谱仪。试验结果表明,本方法的加标回收率均在 96% 以上,3 个加标梯度的 RSD 在 0.249% ~ 1.151%。

2.5 样品检测

将建立的方法应用到实际样品中检测,按照“1.2”和“1.4”项下进行分析。在该样品中检测出 3-氯-1,2-丙二醇残留,其残留量为 $75.8 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。结果如图 3 所示。

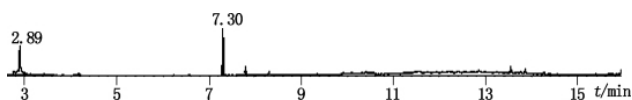


图 3 实际样品的总离子流图

Fig 3 GC-MS (SIM) chromatograms of spiked samples

3 结论

本实验建立了 GC/MS 检测二羟丙茶碱中 3-氯-1,2-丙二醇残留的分析方法,优化了样品预处理条件和气质联用条件,方法检出限为 $2.3 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,可以满足企业对 3-氯-1,2-丙二醇残留量检测的要求,从而为监测 3-氯-1,2-丙二醇残留量提供了科学依据。

参考文献

- 1 CHEN Xin-qian(陈新谦), JIN You-yu(金有豫), TANG Guang(汤光). New Edition of Medica(新编药理学). 15th Ed(第五版). Beijing(北京): People's Medical Publishing House(人民卫生出版社) 2003. 413
- 2 WU Hui-qin(吴惠勤), ZHANG Gui-ying(张桂英), HUANG Fang(黄芳) *et al.* Determination of 3-mono-chloropropane-1,2-diol in soy sauce by gas chromatography-mass spectrometry(酱油中 3-氯-1,2-丙二醇的气相色谱-质谱分析). *Chin J Anal Chem*(分析化学) 2003 31(3): 345
- 3 Xiao-ping XING, Yu-hua CAO. Determination of 3-chloro-1,2-propanediol in soy sauces by capillary electrophoresis with electrochemical detection. *Food Control* 2007(18): 167
- 4 Pielichowski K., Slotwinska D. Flame-resistant modified segmented polyurethanes with 3-chloro-1,2-propanediol in the main chain-thermo analytical studies. *Thermochim Acta* 2004(410): 79
- 5 XIE Tian-yao(谢天尧), LI Na(李娜), TANG Ya-jun(唐亚军) *et al.* Determination of the carcinogen 3-monochloropropane-1,2-diol by capillary electrophoresis with conductivity detection(致癌物 3-氯-1,2-丙二醇的毛细管电泳/电导分离检测). *Chin J Chromatogr*(色谱) 2003 21(5): 513
- 6 GUO Mao-zhang(郭茂章), CHEN Yi-guang(陈意光), WU Zhong-ling(吴钟玲) *et al.* A solid phase extraction-GC/MS method for determination of 3-monochloropropane-1,2-diol in soy sauce(固相萃取-气质联用法测定酱油中 3-氯-1,2-丙二醇). *Mod Food Sci Technol*(现代食品科技) 2010 26(6): 646
- 7 ZHU Guo-ying(朱国英), XU Xiao-min(徐小民), GUAN Jian(管健). Rapid determination of 3-monochloropropane-1,2-diol in soy sauce by using gas-chromatography-mass spectrometry(GC-MS 法快速检测酱油中的 3-氯-1,2-丙二醇). *Chin J Health Lab Technol*(中国卫生检验杂志) 2010 20(5): 1016
- 8 TONG Ke-xing(佟克兴), ZHANG Hua(张华), JIANG Jun(姜俊) *et al.* Study on determination methods of 3-monochloropropane-1,2-diol(3-MCPD) in soy sauce[酱油中 3-氯-1,2-丙二醇(3-MCPD)检测方法研究]. *China Brewing*(中国酿造), 2008 182(5): 78
- 9 Larry E. Rodman R, Dudley R. Gas-liquid chromatography of 3-chloropropane diol. *J Chromatogr* 1986 369: 97
- 10 Spyres G. Determination of 3-chloropropane-1,2-diol in hydrolyzed vegetable proteins by capillary gas chromatography with electrolytic conductivity detection. *J Chromatogr* 1993 638: 71

(本文于 2010 年 10 月 14 日收到)