

· 化学与分析 ·

固体树脂顶空进样 GC 法检测 D-101 系列大孔吸附树脂中 3 种低沸点有机溶剂残留量

王金钱¹, 王焱², 章军³, 催志萍³, 王跃生^{1,3}, 陈银芳^{4*}

(1. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 南昌 330006; 2. 澳门大学中华医药研究院, 澳门;
3. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 4. 江西中医学院, 南昌 330004)

[摘要] 目的: 建立 D-101 型树脂中苯、甲苯、苯乙烯 3 种低沸点残留有机溶剂直接固体树脂顶空进样 GC 含量测定方法。方法: 顶空条件为平衡温度 120 ℃, 加压时间 0.5 min, 平衡时间 30 min, 定量环填充时间 0.5 min, 进样时间 1 min。色谱条件: FID 检测器, DM-1 气相柱, 柱温 60 ℃ 保持 10 min, 5 ℃·min⁻¹ 升至 200 ℃, 分流比 2:1, 流速 0.4 mL·min⁻¹, N₂-Air-H₂ (30:300:30)。结果: 各成分线性关系均良好, 回收率 >90%, 精密度、重复性良好, 各有机残留溶剂最低检测限均 <3 ppm。结论: 直接固体树脂顶空进样较溶剂提取进样法, 检测结果更接近真值, 且操作简单, 适用于 D-101 树脂中苯等低沸点有机溶剂残留的含量测定。

[关键词] D-101 型大孔吸附树脂; 固体树脂顶空进样; 气相色谱; 有机溶剂残留

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)04-0071-04

Determination of Three Residual Organic Solvents with Low Boiling Point in D-101 Macroporous Absorption Resin by Headspace-GC with Solid Resin Sampled

WANG Jin-qian¹, WANG Yan², ZHANG Jun³, CUI Zhi-ping³, WANG Yue-sheng^{1,3}, CHEN Yin-fang^{4*}

(1. National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation in Chinese Herbal Medicine, Nanchang 330006, China; 2. Institute of Chinese Medical Sciences, University of Macau, Macau, China; 3. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 4. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method to determine the content of three residual organic solvents such as benzene, methylbenzene and phenylethylene in the D-101 macroporous absorption resin, by headspace-GC. **Method:** Headspace condition was as follows: equilibrium temperature 120 ℃; pressurization time 0.5 min; equilibrium time 30 min; ration ring filling time 0.5 min; sample injection time 1 min. Chromatographic condition was as follows: FID-detector, DM-1 GC column; column temperature, the initial temperature was kept at 60 ℃ for 10 min, then, rose to 200 ℃ at the rate of 5 ℃·min⁻¹; split ratio was 2:1, flow rate was 0.4 mL·min⁻¹, N₂-Air-H₂ (30:300:30). **Result:** The method was in good linear relation, recovery (more than 90%), precision and reproducibility. Limits of detection were less than 3 PPM. **Conclusion:** This method is more closed to truth-value than the method of solvent extraction and direct injection, and also operates simply. So it is suitable for determining

[收稿日期] 20111226(008)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81060339)

[第一作者] 王金钱, 硕士, 工程师, 从事中药新剂型和中药制剂关键技术研究, Tel: 0791-87119805, E-mail: wangjinqian_1979@126.com

[通讯作者] * 陈银芳, 硕士, 讲师, 从事中药分析及中药药效物质研究, Tel: 0791-87118919, E-mail: chenyingfang_1984@126.com

the content of residual organic solvent in the D-101 macroporous absorption resin.

[**Key words**] D-101 macroporous absorption resin; headspace with solid resin sampled; gas chromatography; residual organic solvent

大孔吸附树脂是一类不含交换基团、有大孔结构且不溶于酸、碱及各种有机溶剂的高分子聚合物,以其精制分离效果好,可反复多次使用等优势,在中药组分、中药提取物分离纯化中应用十分广泛^[1-3]。大孔吸附树脂属于苯乙烯骨架型树脂,是以苯乙烯、二乙烯苯等为原料,制得的树脂往往残留有大量的有机溶剂,且不易除去,目前业内也没有统一的预处理方法。经由大孔树脂分离纯化的中药组分或提取物也常含有各种有机残留物,极大地影响了药物的安全性,同时也限制了大孔吸附树脂在中药分离纯化方面的广泛应用。因此,研究大孔吸附树脂中残留有机溶剂的检测方法^[4],为业内制定大孔吸附树脂残留有机溶剂标准提供科学依据是促进中医药发展的必要举措。

本文选取中药分离纯化中应用最为广泛的 D-101 树脂为研究对象,采用顶空进样气相色谱法同时检测其中苯、甲苯、苯乙烯 3 种主要的有机溶剂残留情况,为制定 D-101 型大孔树脂有机溶剂残留标准提供参考。

1 仪器与试剂

Agilent 6890N GC system (HP 7694E Headspace sampler, Agilent 7684 自动进样器, 20 mL 顶空瓶); SGE-300 型高纯氢气发生器(北京市清华苑技术研究所), SGK-2LB 型低噪音空气泵(北京市东方清华苑科技有限公司)。

苯(色谱级,北京化学试剂公司),甲苯(色谱级,中外合资绿色特种化学品有限公司),苯乙烯(色谱级,北京化学试剂公司)95%乙醇(优级纯,北京北化精细化学品有限责任公司)。D-101 大孔吸附树脂(天津农药股份有限公司树脂分公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及顶空条件 色谱条件^[5-7]: DM-1 (100% 聚二甲基硅氧烷) 色谱柱 0.25 mm × 60 m, 0.25 μm; 柱温 60 °C 保持 10 min, 5 °C · min⁻¹ 升至 200 °C, 保持 5 min; 载气高纯 N₂, 分流比 2:1, 流速 0.4 mL · min⁻¹, FID 检测器, N₂-Air-H₂ (30:300:30); 进样口温度 200 °C, 检测器温度 300 °C。

顶空条件^[8-9]: 平衡温度 120 °C, 传输线温度 120 °C, 定量环温度 120 °C, 加压时间 0.5 min, 平衡时间 30 min, 循环时间 50 min, 定量环填充时间 0.5

min, 定量环平衡时间 0.5 min, 进样时间 1 min。

2.2 对照品的制备 分别称取苯 0.50 g、甲苯 0.10 g、苯乙烯 1.25 g, 精密称定, 分别置于 5 mL 量瓶内, 加 95% 乙醇稀释至刻度, 即得各对照品贮备液。

精密吸取各对照品贮备液 1 mL, 置于 25 mL 量瓶内, 加 95% 乙醇稀释至刻度, 即得混合对照品溶液。

2.3 检测方法 称取 D-101 树脂样品 0.05 g/份, 精密称定, 分别置于顶空瓶内, 精密加入 10 μL 95% 乙醇, 迅速封盖, 混合均匀后以上述色谱、顶空条件测定待测物质峰面积, 并以外标法计算其含量。检测图谱见图 1, 2。

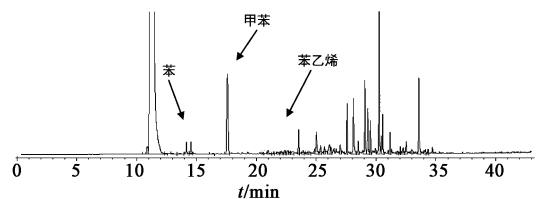


图 1 D-101 树脂苯、甲苯、苯乙烯 GC 图谱

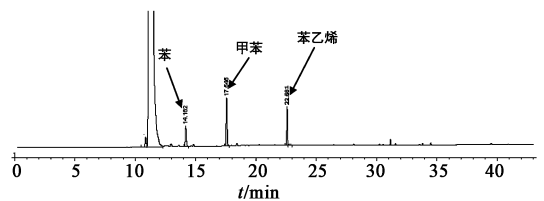


图 2 苯、甲苯、苯乙烯对照品图谱

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察 精密吸取含苯、甲苯、苯乙烯对照品贮备液, 制成系列不同浓度的混合对照品溶液, 精密称取洁净树脂(经预处理, 除去有机溶剂残留的树脂)0.05 g/份, 数份, 置于顶空瓶内, 精密加入各浓度混合对照品溶液 10 μL, 混合均匀后按 2.3 项下条件测定各待测物质峰面积, 并以绝对含量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 求得回归方程。结果见表 1。

表 1 苯、甲苯、苯乙烯检测线性关系

回归方程	$Y = aX + b$	r	线性范围/μg
苯	$Y = 0.1583X + 0.6329$	0.9993	0.0664 ~ 41.49
甲苯	$Y = 0.1448X - 0.5352$	0.9991	0.1615 ~ 60.06
苯乙烯	$Y = 0.1191X - 2.1204$	0.9994	0.1692 ~ 63.45

2.4.2 精密度考察 取洁净树脂 0.05 g/份,6 份,精密称定,分别置于顶空瓶内,精密加入各对照品贮备液适量,迅速封盖,混合均匀后分别测定,记录各待测物质峰面积,外标法计算其含量以及 RSD。结果苯精密度 RSD 6.2%,甲苯精密度 RSD 4.3%,苯乙烯精密度 RSD 4.5%,说明该方法精密度良好。

2.4.3 重复性考察 取未处理树脂样品 0.05 g/份,6 份,精密称定,分别置于顶空瓶内,精密加入 10 μL 95% 乙醇,迅速封盖,混合均匀后测定,记录待测物质峰面积,外标法计算其含量以及 RSD。结果苯重复性 RSD 5.5%,甲苯重复性 RSD 4.5%,苯乙烯重复性 RSD 6.1%,说明该方法重复性良好。

2.4.4 稳定性考察 取未处理树脂样品 0.05 g/份,21 份,精密称定,分别置于顶空瓶内,精密加入适当浓度混合对照品溶液 10 μL ,迅速封盖,混合均匀后,于 0,2,4,6,8,12,24 h,各取 3 份进样测定,记录待测物质峰面积,外标法计算其含量以及 RSD。结果样品苯稳定性 RSD 3.9%,甲苯稳定性 RSD 1.7%,苯乙烯稳定性 RSD 5.8%,说明样品在 24 h 内稳定。

2.4.5 加样回收率考察

2.4.5.1 未处理树脂加样回收率考察 取未处理树脂 0.05 g/份,6 份,精密称定,将各对照品贮备液稀释成一定倍数后各精密加入 10 μL ,迅速封盖,混合均匀后测定,记录待测物质峰面积,外标法计算回收率以及 RSD。结果表明,未处理树脂加样回收率良好,结果见表 2。

2.4.5.2 洁净树脂加样回收率考察 取洁净树脂 0.05 g/份,6 份,精密称定,将各对照品贮备液稀释成一定倍数后各精密加入 10 μL ,迅速封盖,混合均匀后测定,记录待测物质峰面积,外标法计算回收率以及 RSD。结果该方法洁净树脂加样回收率较低(苯、甲苯、苯乙烯回收率分别为 36.88%,29.50%,49.47%),说明 120 $^{\circ}\text{C}$ 恒温的顶空条件下有机残留溶剂在树脂中仍有吸附,因此,有机残留溶剂含量计算应加上该条件下洁净树脂吸附率更为合理。由此,线性关系考察中应加入洁净树脂吸附有机溶剂作为校对更为合理。结果见表 3。

2.4.6 最低检测限考察 取各对照品贮备液,加色谱纯乙醇,稀释成不同浓度,进样测定,当 $S/N = 2$ 时各待测物质的浓度即为最低检出浓度。结果苯检测限为 $0.0063 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ (1.26×10^{-6}),甲苯 $0.0074 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ (1.48×10^{-6}),苯乙烯 $0.0123 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ (2.41×10^{-6})。

表 2 D-101 未处理树脂加样回收率

成份	树脂湿重 /g	样品中 含量/ μg	实测量 / μg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
苯	0.058 2	1.217 5	3.030 1	90.67	93.60	4.78
	0.056 5	1.182 0	3.037 8	92.83		
	0.059 0	1.234 3	3.001 2	88.39		
	0.050 9	1.064 8	3.063 6	99.98		
	0.051 7	1.081 6	3.040 7	98.00		
	0.056 3	1.177 8	3.011 1	91.71		
甲苯	0.058 2	18.148 5	29.800 1	96.19	96.49	96.49
	0.056 5	17.618 4	29.240 5	95.95		
	0.059 0	18.398 0	29.869 1	94.70		
	0.050 9	15.872 1	27.763 0	98.17		
	0.051 7	16.121 6	27.718 4	95.74		
	0.056 3	17.556 0	29.452 9	98.22		
苯乙烯	0.058 2	3.522 3	7.178 4	86.43	89.46	89.46
	0.056 5	3.419 4	7.195 8	89.27		
	0.059 0	3.570 7	7.263 5	87.29		
	0.050 9	3.080 5	6.898 8	90.26		
	0.051 7	3.128 9	7.193 1	96.07		
	0.056 3	3.407 3	7.105 4	87.42		

注:加入量苯 1.999 1 kg,甲苯 12.428 kg,苯乙烯 4.2303 μg 。

表 3 D-101 洁净树脂加样回收率

成分	树脂湿重 /g	样品中 苯含量 / μg	实测苯 含量 / μg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
苯	0.051 6	0	0.696 9	42.01	36.88	7.6
	0.052 0	0	0.600 6	36.20		
	0.051 3	0	0.565 6	34.09		
	0.052 8	0	0.600 4	36.19		
	0.051 1	0	0.626 9	37.78		
	0.051 7	0	0.580 5	34.99		
甲苯	0.051 6	0	1.282 4	31.76	29.50	4.8
	0.052 0	0	1.155 7	28.62		
	0.051 3	0	1.121 9	27.79		
	0.052 8	0	1.170 8	28.99		
	0.051 1	0	1.185 3	29.34		
	0.051 7	0	1.229 9	30.46		
苯乙烯	0.051 6	0	2.143 0	50.66	49.47	2.2
	0.052 0	0	2.010 7	47.53		
	0.051 3	0	2.075 1	49.33		
	0.052 8	0	2.129 0	50.33		
	0.051 1	0	2.097 7	49.59		
	0.051 7	0	2.099 4	49.63		

注:加入量苯 1.659 2 μg ,甲苯 4.037 6 μg ,苯乙烯 4.230 2 μg 。

2.4.7 样品含量测定 分别取 D-101 不同型号不同批次的未处理树脂,按样品测定方法测定,计算其残留有机溶剂含量,见表 4。

表 4 D-101 系列树脂样品的含量测定

种类	批次	树脂重 (湿重)/g	苯 /μg	甲苯 /μg	苯乙烯 /μg
D-101	1	0.050 1	0.254 0	16.046 2	0.248 0
	2	0.050 7	0.231 6	19.813 7	0.186 3
	3	0.050 4	0.216 1	17.786 0	0.182 9
	4	0.049 3	0.541 2	10.416 0	0.172 5
D-101A	1	0.057 3	0.370 3	14.357 0	0.343 1
	2	0.049 1	0.386 8	17.889 4	0.1438
	3	0.049 9	0.442 3	11.245 6	0.278 1
	4	0.051 2	0.189 4	15.721 0	0.233 4
D-101B	1	0.051 1	0.325 6	8.940 7	0.269 5
	2	0.049 5	0.199 8	11.467 0	0.211 3
	3	0.050 3	0.369 9	8.358 1	0.364 7
	4	0.052 2	0.337 4	9.449 3	0.279 6
D-101 精品	1	0.048 8	0.689 3	36.771 6	0.598 1
	2	0.054 3	0.654 1	32.395 9	0.639 9
	3	0.051 4	0.732 1	28.765 4	0.617 4
	4	0.051 2	0.695 4	43.339 5	0.526 9

3 讨论

大孔吸附树脂表面的空隙极易对苯、甲苯及苯乙烯产生吸附,应用顶空进样-气相色谱法对其进行检测,实际上依然是大孔树脂在吸附了苯、甲苯及苯乙烯的基础达到的平衡,这一点在应用洁净树脂做加样回收率考察时等到了很好的印证。考虑到这一实际情况,考察苯、甲苯及苯乙烯标准曲线时,加入洁净树脂进行测定,以校正树脂对苯、甲苯及苯乙烯吸附所带来的检测结果的偏差。

顶空进样-气相色谱法检测十分灵敏,许多细节问题均能对实验结果造成一定干扰。研究过程发现不同品类的顶空瓶橡胶塞亦会对色谱图造成影响。

考察了 Agilent 灰色橡胶塞、Agilent PTFE 灰色胶塞及 Chrom Tech Silicone/PTFE 黄白色胶塞几种顶空瓶橡胶塞,发现 Agilent PTFE 灰色胶塞空白图谱除 10 min 处有一小峰外,其余均无干扰。因此,本实验选择 Agilent PTFE 灰色胶塞开展研究,尽可能地排除系统条件对结果产生的干扰。

[参考文献]

- [1] 张虹,柳正良,王洪泉.大孔吸附树脂在药学领域的应用[J].中国医药工业杂志,2001,32(1):41.
- [2] 罗荣生,何伟,郭姣.大孔吸附树脂纯化丹参酚酸的研究[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(6):14.
- [3] 李娆娆,王彩芳,黄兰岚,等.大孔树脂处理对芫花药材 HPLC 指纹图谱的影响[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(6):4.
- [4] 袁铸人,郭立玮,彭国平,等.气相色谱法检测 AB-8 大孔吸附树脂残留物及醋酸纤维素膜截留残留物的研究[J].南京中医药大学学报,2002,18(2):96.
- [5] 岳春华,李岳,李顺祥,等.顶空气相色谱法测定骨碎补总黄酮中大孔吸附树脂残留物[J].中南药学,2011,9(2):95.
- [6] 杨士友,顾攀,孙备,等.白芍解郁颗粒中大孔吸附树脂残留物质量标准的研究[J].中国实验方剂学杂志,2004,10(6):11.
- [7] 程远方,辜转荣,马海平,等.毛细管气相色谱法检测 D101 大孔吸附树脂残留物的研究[J].湖北中医杂志,2007,29(10):61.
- [8] 程宾,来国防,王莉,等.顶空气相色谱法测定灯盏细辛酚中大孔吸附树脂有机残留物[J].昆明医学院学报,2009,30(10):30.
- [9] 田璞玉,顾雪竹,王金梅,等. HS-SPME-GC-MS 分析茸毛木蓝地上部分和根挥发性成分[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(6):86.

[责任编辑 顾雪竹]