顶空进样毛细管气相色谱法测定生物素中有机溶剂残留量

杨伟峰[1],方红梅[2](1.浙江省药品检验所,浙江 杭州 310004;2.浙江大学医学院附属邵逸夫医院,浙江 杭州 310016)

摘要:目的 建立测定生物素中有机溶剂残留量的方法。方法 采用顶空进样毛细管气相色谱法测定,色谱柱为 HP-INNOWax 毛细管柱;程序升温,初始温度为 50 ℃,维持 6 min 后,以 20 ℃·min^{-1}升温至 180 ℃保持 5 min。结果 在确定的色谱条件下各组分能基线分离,线性关系良好;加样回收率为 96.7%~102.4%。最低检测限为 0.03~0.16ppm。结论 该方法灵敏度和准确度均达到有机溶剂残留量检测的要求,可用于生物素中有机溶剂残留量的测定。

关键词:生物素;有机溶剂残留量;气相色谱法;顶空进样法
中图分类号:R917.01;R977.2 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2004)04-0296-02

Determination of residual organic solvents in biotin by headspace-gas chromatography

YANG Wei-feng[1], FANG Hong-mei[2](1. *Zhejiang Institute for Drug Control, Hangzhou* 310004, *China*; 2. *Affiliated Sir Run Run Shaw Hospital, College of Medical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou* 310020, *China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for the determination of residual organic solvents in biotin. **METHOD** Headspace-gas chromatography was adopted using a HP-INNOWax capillary column, The initial column temperature was 50 ℃ maintained for 6 min and then raised (20 ℃·min^{-1}) to 180 ℃ for 5 min. **RESULTS** Under the chromatographic condition, all solvents were separated and had good linear range; the average recoveries were 96.7%~102.4%. **CONCLUSION** The method is sensitive and accurate. It can be used to determine the residual organic solvents.

KEY WORDS: biotin; residual organic solvent; gas chromatography; gas headspace analysis

生物素为维生素类药品,为控制全合成生物素的质量,根据生产工艺,对可能残留的有机溶剂四氢呋喃、醋酸乙酯、乙醇、甲苯、二甲苯进行检测。

1 仪器与试药

HP6890 气相色谱仪 HP7694 顶空进样器 Chemstation 工作站;四氢呋喃、醋酸乙酯、乙醇、甲苯、二甲苯均为分析纯;二甲基甲酰胺(DMF)为色谱纯。

2 色谱条件

色谱柱:HP-INNOWax(Polyethylene Glycol) 30 m×0.32 mm×0.25 μm 毛细管柱。柱温:程序升温,初始 50 ℃维持 6 min,以 20 ℃·min^{-1}升温至 180 ℃保持 5 min。载气:N_2,流速:1.0 mL·min^{-1}恒流,分流比 2:1,进样口温度:200 ℃;检测器(FID)温度:250 ℃;顶空进样器参数:瓶加热温度:95 ℃ 瓶加热时间:30 min 样品管温度:100 ℃;导管温度:105 ℃加压时间:0.2 min 样品管充满时间:0.2 min;样品管平衡时间:0.1 min 进样时间:1 min。

3 方法与结果

3.1 混合对照储备液制备

精密量取四氢呋喃、醋酸乙酯、乙醇、甲苯、二甲苯适量,加 70% DMF 溶液制成每 1 mL 各含 89,90,158,35,90 μg·mL^{-1}的溶液作为混合对照储备液。

3.2 系统适用性试验

取混合对照储备液 25 mL,加 70% DMF 定量稀释至 50 mL,摇匀,作为混合对照溶液。取 5 mL 至顶空瓶中,95 ℃加热 30 min 后,顶空进样,记录色谱图。结果各组分的分离度均大于 2.0,柱效大于 56 442。见图 1,其中二甲苯为邻、间、对-二甲苯及乙基苯的混合物,共有 4 个峰。

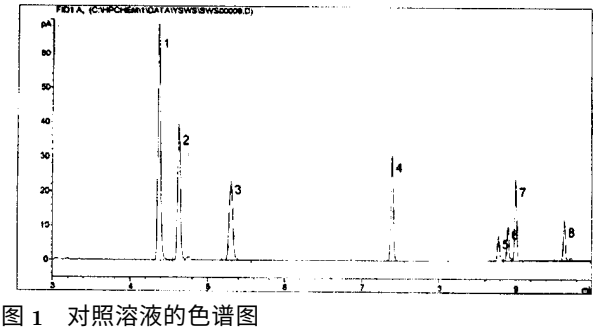

图 1 对照溶液的色谱图

Fig 1 Chromatogram of the mixed standard solution

1. 四氢呋喃;2. 醋酸乙酯;3. 乙醇;4. 甲苯 5~8. 二甲苯

1. tetrahydrofuran; 2. ethyl acetate; 3. ethanol; 4. toluene; 5~8. xylene

3.3 线性关系

作者简介:杨伟峰,男,1965 年出生,硕士,副主任药师,1987 年毕业于浙江医科大学药学系。Tel:(0571)86459413

中国现代应用药学 http://www.chinjmap.com

精密量取混合对照储备液 1.0,2.0,3.0,4.0,5.0 mL 分别置 10 mL 量瓶中,加 70%DMF 溶液至刻度。量取上述溶液及储备液 5.0 mL,分别置顶空瓶中,加盖,加热后顶空进样。结果见表 1。

表 1　线性关系与线性范围

Tab 1　Calibration data of the examined solvents

溶剂	线性方程	相关系数	线性范围 ($\mu g \cdot mL^{-1}$)
四氢呋喃	Y = 3.775X - 1.017	0.9999	8.89 ~ 88.9
醋酸乙酯	Y = 2.171X - 0.4457	1.0000	9.00 ~ 90.0
乙醇	Y = 0.9695X + 0.7345	0.9999	15.8 ~ 158
甲苯	Y = 3.927X - 0.5612	0.9998	3.47 ~ 34.7
二甲苯	Y = 2.232X - 1.748	0.9998	8.96 ~ 89.6

结果表明,在上述浓度范围内,峰面积与浓度呈良好的线性关系。

3.4　空白溶液测试

量取 70%二甲基甲酰胺(DMF)溶液 5.0 mL,顶空进样。结果表明空白对测定无干扰。

3.5　对照溶液进样重复性

精密量取混合对照溶液(含四氢呋喃、醋酸乙酯、乙醇、甲苯、二甲苯分别为 44,45,79,18,45 $\mu g \cdot mL^{-1}$) 5.0 mL,置顶空瓶中,95 ℃加热 30 min 后,顶空进样。重复测定 5 次,计算 RSD,结果见下表 2。

表 2　对照溶液进样重复性

Tab 2　Injection reproducibility of the standard solution

溶剂	1	2	3	4	5	平均峰面积	RSD (%)
四氢呋喃	167.04	171.31	163.02	166.42	163.72	166.31	1.97
醋酸乙酯	97.38	99.65	95.11	96.43	95.54	96.82	1.86
乙醇	77.74	77.79	77.21	73.00	78.06	76.76	2.77
甲苯	67.01	68.38	65.89	66.71	66.27	66.85	1.43
二甲苯	98.43	99.48	99.57	97.55	99.04	98.81	0.85

注:二甲苯为 4 个峰面积的和

从上述结果可见,精密度符合药典要求。

3.6　加样回收率

取生物素样品 0.2g(含醋酸乙酯 64μg),精密称定,置顶空瓶中,精密加入混合对照溶液 5.0 mL(含四氢呋喃、醋酸乙酯、乙醇、甲苯、二甲苯分别为 223,225,395,88,225μg),加盖。水浴中加热使样品溶解,置顶空进样器中 95 ℃加热 30 min,顶空进样,根据峰面积计算回收率。四氢呋喃、醋酸乙酯、乙醇、甲苯、二甲苯的平均回收率($n = 5$)分别为 96.7,98.6,102.4,97.7,100.7%;RSD 分别为 0.5,0.7,1.1,0.8,0.8%。

3.7　最低检出量

精密量取混合对照溶液适量,加 70%二甲基甲酰胺(DMF)溶液稀释 50,100,200,250,500 倍后,精密量取 5.0 mL,顶空进样,直到峰高约为基线噪声的 3 ~ 5 倍,得最低检出浓度,四氢呋喃 0.09μg/mL、醋酸乙酯 0.09μg/mL、乙醇 0.16μg/mL、甲苯 0.03μg/mL、二甲苯 0.09μg/mL。

3.8　三批样品的测定

取样品约 0.2g,精密称定,置顶空瓶中,加 70%二甲基甲酰胺(DMF)溶液 5.0 mL,水浴中加热溶解,置顶空进样器中 95 ℃加热 30 min,顶空进样,结果除醋酸乙酯其他溶剂均未检出,见图 2 及表 3。

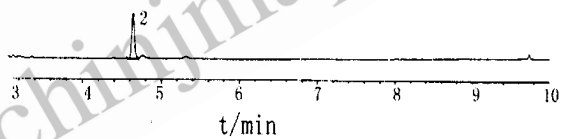

图 2　样品的色谱图

Fig 2　Chromatogram of the biotin sample

表 3　三批样品测定结果

Tab 3　Determination results of three batches of biotin samples

批号	020401	020402	020403
乙酸乙酯量(%)	0.032	0.030	0.029

4　讨论

4.1　如直接进样,生物素及其分解产物影响残留溶剂测定,且污染进样口和柱子;采用顶空进样法则能避免样品对测定的干扰。

4.2　生物素在水及酸、碱中均不溶解,而在 DMF 中溶解,但用 DMF 作溶剂,各组分的检出灵敏度较低,采用 70%DMF 作溶剂能在溶解样品的同时,显著提高检出灵敏度。

收稿日期:2003-10-30

http://www.chinjmap.com