

丝氨酸毛细管气相色谱法的研究

郝文明 杨天祝

山东省化工研究院, 济南 250014

摘要: 用毛细管气相色谱法FID检测器, 外标法定量对丝氨酸及其酯化产物的纯度进行了分析。用乙酸酐和吡啶对其进行衍生化, 酯化率大于 99.6%, 生成的酯化产物用毛细管色谱法分析, 其分离效率高, 重现性好, 检测结果准确, 变异系数 0.85%, 在产品检测中取得满意的结果。

关键词: 气相色谱法; 丝氨酸; 酯化反应

前言

丝氨酸(化学名称: 2-氨基-1, 3-丙二醇)是一种医药中间体, 用来合成碘帕醇(医药名称碘必乐)的主要原料。碘帕醇是一种非离子造影剂, 作为血液系统、淋巴系统、泌尿系统、神经系统诊断试剂, 是一种新型的医药产品, 在国外发达国家得到广泛应用。目前我国所用碘帕醇完全依赖进口, 至此引起国内医药界专家学者的高度重视和极大的关注, 其产品的国产化迫在眉睫。丝氨酸是碘帕醇的主要原料, 在国际上只有印度一家公司在生产, 国内尚未有生产厂家, 其市场前景好, 产品供不应求, 价格较高。由山东省化工研究院精细化工研究中心研制开发的丝氨酸生产技术, 属国际领先水平, 产品质量能与国外媲美, 但其质量控制问题目前我国无标准方法亦未见文献报道, 经多次试验探索, 建立了该产品的气相色谱分析法, 该方法简捷、准确、是一种控制丝氨酸质量的有效方法。

试验

2.1. 仪器与试剂

仪器: 岛津 GC-14C 气相色谱仪带 FID 检测器, 浙江大学 N-2000 色谱数据工作站。

试剂: 丝氨酸标准品含量 $\geq 99.5\%$ (美国 Sigma 公司提供), 乙酸酐分析纯 (山东省化工研究院提供), 吡啶分析纯 (山东省化工研究院提供), 二氯甲烷分析纯 (山东省化工研究院提供)。

2.2. 色谱条件

毛细管柱: $30\text{m} \times 0.32\text{mm(I.D.)} \times 0.25\mu\text{m DB-17}$ 毛细管柱 (J&W 公司提供), 柱室温度: 150°C , 恒温 2min, 以 $12^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 230°C , 保持 5min; 检测器温度: 260°C , 汽化室温度: 250°C ; 载气(N_2)柱前压: 120kpa, 空气流量: $450\text{mL}/\text{min}$, 氢气流量: $50\text{mL}/\text{min}$, 分流比: 1 : 50, 尾吹: $35\text{mL}/\text{min}$, 进样量: $0.4\mu\text{L}$ 。

2.3. 酯化方法

准确称量丝氨酸样品 1g 左右 (准确至 $\pm 0.0002\text{g}$), 于 50mL 以干燥好的分液漏斗中, 量取 5mL 吡啶和 5mL 乙酸酐倒入分液漏斗, 在 90°C 恒温水浴上回流 1 小时, 冷却后准确移取 5mL 二氯甲烷倒入分液漏斗, 振摇, 水洗 3 次弃掉水相, 油状物供色谱分析。

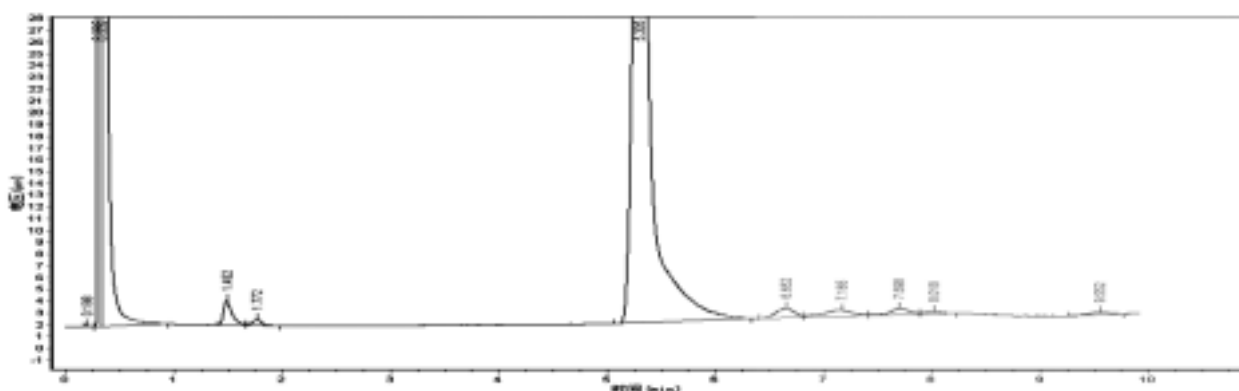
2.4. 丝氨酸标准曲线的配制

准确称量丝氨酸标准品 0.0、0.3、0.5、1.0、1.5、2.0g(准确至 $\pm 0.0002\text{g}$),分别至于 50mL 以干燥好的分液漏斗中(同 2.3 所述的酯化方法)按上述色谱条件平行进样三次,以峰面积(Y)和质量浓度(X)进行线性回归,其相关系数 $r > 99.8\%$ 。

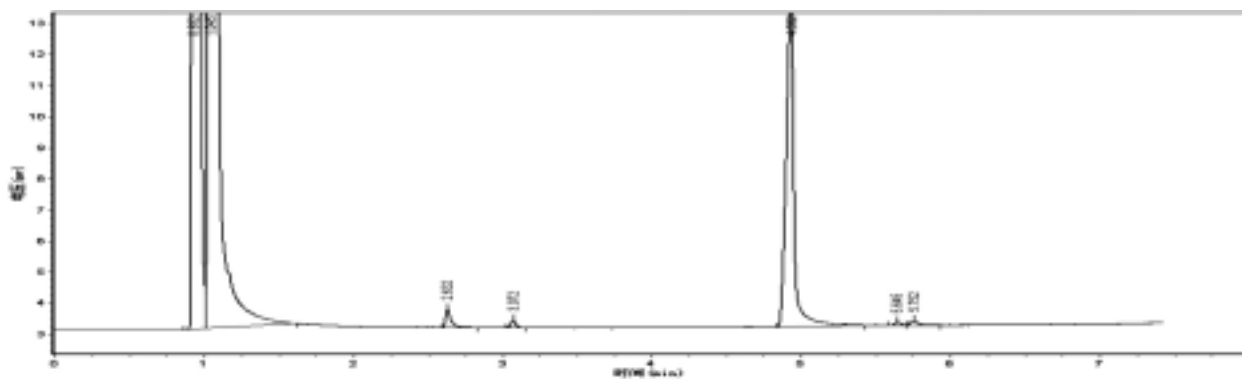
3. 结果与讨论

3.1. 色谱柱的选择

丝氨酸的结构特性不适于用一般的色谱柱进行分离,曾选用 3%OV-17 Chromosorb W.AW.DMCS(60-80 目) $2\text{m} \times 3\text{mm}$ 不锈钢柱, 5%SE-30 Chromosorb W.AW.DMCS(60-80 目) $2\text{m} \times 3\text{mm}$ 不锈钢柱对丝氨酸样品按 2.3 酯化方法进行处理后进样分析,在 3%OV-17 柱上丝氨酸峰与其后的杂质峰分不开,影响其定量的准确性。在 5%SE-30 柱上其丝氨酸峰形拖尾严重,将其后的一杂质覆盖,又选用 $30\text{m} \times 0.53\text{mm}$ (I.D) $\times 0.5\mu\text{m}$ DB-1 毛细管柱对丝氨酸样品按 2.3 酯化方法进行处理后进样分析,丝氨酸主峰拖尾杂质峰分离效果差(见谱图 1)。后选用 $30\text{m} \times 0.32\text{mm}$ (I.D) $\times 0.25\mu\text{m}$ DB-17 毛细管柱进行分析,其分离效果好,峰形对称(见谱图 2)。



谱图 1 丝氨酸在 $30\text{m} \times 0.53\text{mm}$ (I.D) $\times 0.5\mu\text{m}$ DB-1 毛细管柱上的峰形

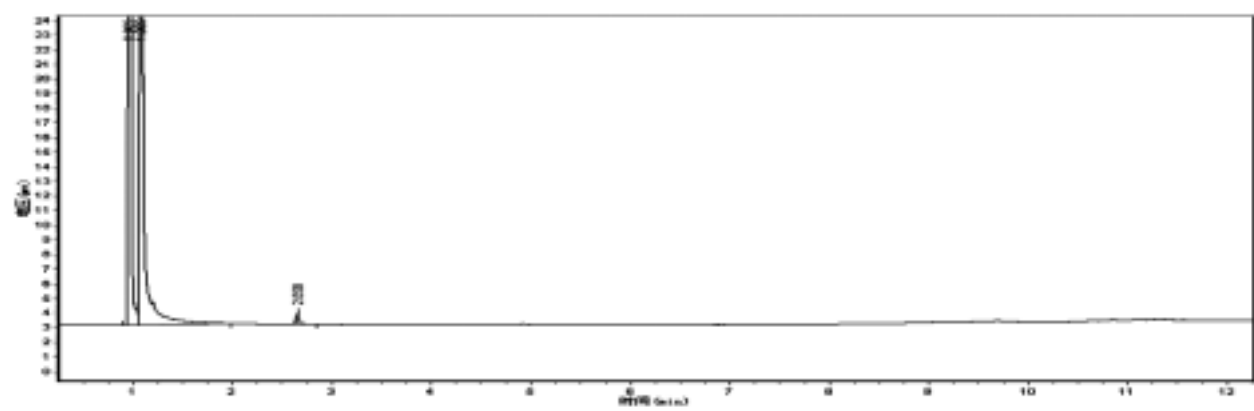


谱图 2 丝氨酸在 $30\text{m} \times 0.32\text{mm}$ (I.D) $\times 0.25\mu\text{m}$ DB-17 毛细管柱上的峰形

3.2. 酯化条件的选择

丝氨酸的结构中含两个羟基和一个氨基,极性较大,不适于直接色谱分析,故选用将其样品酯化的方法,先后比较了乙酰酐、丁酰酐、氯乙酰酐、吡啶等酯化试剂,选择不同的酯化时间 0.25h、0.5h、1h、1.5h、2h 和不同的温度 50°C 、 60°C 、 80°C 、 90°C 进行试验,在 90°C 恒温 1h 乙酰酐和吡啶对丝氨酸的酯

化效果最好，丁酰酐也可以，但丁酰酐和吡啶酯化后的杂质较多。水浴温度低，酯化反应速度明显慢，结果不成线性。综合考虑，本试验选择乙酰酐和吡啶作为酯化试剂，在 90℃ 恒温水浴上回流 1h 丝氨酸酯化完全。并按 2.3 所述的酯化方法进行了空白试验，其结果较为理想（见谱图 3）。



谱图 3 丝氨酸在毛细管柱上的空白试验

3.3. 标准曲线和线性范围

取丝氨酸 0.0、0.5、1.5、5.0、10.0、30.0mg/mL 的标准溶液，样品处理同 2.3 所述酯化条件，按 2.2 所述色谱条件进样分析，每次进样 0.4μL,平行进样 3 次以峰面积（Y）和质量浓度(X) 进行线性回归，丝氨酸的线性范围在 0.8-26mg/mL 之间，相关性良好，其相关系数 $r > 99.8\%$ 。

3.4. 精密度试验

准确称取样品 5 份，样品处理同 2.3 所述酯化条件，按 2.2 所述色谱条件，根据峰面积外标法计算含量，丝氨酸含量的相对标准偏差（RSD）为 0.85%，将测定完的样品密闭保存室温放置 24 小时和 1 个星期后再次测定其含量，丝氨酸含量的相对标准偏差（RSD）分别为 1.41% 和 1.06%,说明本方法的精密度较好。

3.5. 酯化方法的准确度试验

准确称取 5 份样品，准确加入 0.5mg/mL、5.0mg/mL、10.0mg/mL 的丝氨酸标准品，样品处理同 2.3 所述酯化条件，按 2.2 所述色谱条件，根据峰面积外标法计算含量，丝氨酸的回收率在 81.2-97.3% 之间，相对标准偏差（RSD）为 1.02-3.51% 之间，说明本方法准确可靠。

3.6. 样品的测定

取三批不同批次的丝氨酸样品其处理同 2.3 所述酯化条件，按 2.2 所述色谱条件，每批进样三次测得峰面积，根据标准曲线按外标法计算丝氨酸的含量，结果见表 1

表 1 样品的测定

样品号	测定值 %	测定平均 %	变异系数 %
1	99.69 99.63 99.62	96.68	0.061
2	97.20 97.26 97.12	97.19	0.25
3	94.34 94.25 94.19	94.25	0.070

4. 结论

采用将样品酯化的方法通过毛细管柱进行分离,外标法定量来计算丝氨酸的含量,并对其准确度和精密性进行了考察。本方法分离效果好，准确度高，精密性理想，取得了令人满意的结果。